

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

FACULTY OF CHEMISTRY

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

VLIV PODMÍNEK SKLADOVÁNÍ NA OBSAH AROMATICKY AKTIVNÍCH
LÁTEK V TAVENÝCH SÝRECH

DIPLOMOVÁ PRÁCE

DIPLOMA THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

ANNA ŠTOURAČOVÁ

BRNO 2008



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ
BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ
ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ
FACULTY OF CHEMISTRY
INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

VLIV PODMÍNEK SKLADOVÁNÍ NA OBSAH AROMATICKY AKTIVNÍCH LÁTEK V TAVENÝCH SÝRECH

THE EFFECT OF A STORAGE CONDITIONS ON AROMA COMPOUNDS IN PROCESSED
CHEESE

DIPLOMOVÁ PRÁCE
DIPLOMA THESIS

AUTOR PRÁCE
AUTHOR

ANNA ŠTOURAČOVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE
SUPERVISOR

Ing. EVA VÍTOVÁ, Ph.D.

BRNO 2008



Vysoké učení technické v Brně
Fakulta chemická
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

Zadání diplomové práce

Číslo diplomové práce	FCH-DIP0184/2007	Akademický rok: 2007/2008
Ústav	Ústav chemie potravin a biotechnologií	
Student(ka)	Štouračová Anna	
Studijní program	Chemie a technologie potravin (M2901)	
Studijní obor	Potravinářská chemie a biotechnologie (2901T010)	
Vedoucí diplomové práce	Ing. Eva Vítová, Ph.D.	
Konzultanti diplomové práce	Ing. Blanka Loupancová	

Název diplomové práce:

Vliv podmínek skladování na obsah aromaticky aktivních látek v tavených sýrech

Zadání diplomové práce:

1. Zpracujte literární přehled zaměřený na:
 - technologii výroby tavených sýrů
 - vznik a výskyt těkavých aromaticky aktivních látek v tavených sýrech
 - vliv podmínek skladování na jednotlivé složky tavených sýrů s ohledem na vznik aromaticky aktivních látek
 - vliv podmínek skladování na chutnost tavených sýrů
2. Pomocí metody SPME-GC identifikujte a kvantifikujte aromaticky aktivní látky ve vzorcích tavených sýrů
3. Pomocí senzorického hodnocení sledujte chutnost tavených sýrů
4. Zhodnoťte vliv podmínek skladování na obsah aromaticky aktivních látek a chutnost tavených sýrů

Termín odevzdání diplomové práce: 16.5.2008

Diplomová práce se odevzdává ve třech exemplářích na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu diplomové práce. Toto zadání je přílohou diplomové práce.

Anna Štouračová
student(ka)

Ing. Eva Vítová, Ph.D.
Vedoucí práce

Ředitel ústavu

V Brně, dne 1.9.2007

doc. Ing. Jaromír Havlica, CSc.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Cílem této práce bylo sledovat vliv podmínek skladování, tedy teploty a doby, na obsah aromatických látek ve sterilovaných tavených sýrech a také na jejich chutnost. Sýry byly vyrobeny firmou Madeta, a. s. dne 8. 11. 2005.

Teplota sterilace byla 117 °C, působila 20 minut. Část sýrů byla uchovávána v lednici při teplotě 6 °C, část při pokojové teplotě 23 °C a část v termostatu při teplotě 40 °C. Analýza probíhala po 16 a 23 měsících skladování. Pro srovnání byly odebrány dvě šarže sýrů.

Aromatické látky byly ze vzorků sýrů izolovány pomocí metody SPME, neboli mikroextrakce tuhou fází. Bylo použito vlákno s polární stacionární fází CARTM/PDMS. Následně byly identifikovány a kvantifikovány pomocí známých standardů a plynové chromatografie. Celkem se podařilo stanovit 37 aromatických látek, z toho bylo 7 aldehydů, 7 ketonů, 6 kyselin, 12 alkoholů a 5 esterů.

Celkový obsah aromatických látek se s vyšší teplotou skladování zvyšuje. I když se celkový obsah aromatických látek v 16 měsíci oproti předchozímu stanovení (12 měsíc) snížil, ve 23 měsíci opět prudce stoupl. Doba skladování má také vliv na obsah aromatických látek, můžeme říci, že trend je spíše stoupající, i když prudký nárůst byl zaznamenán až po 23 měsících, a to u sýru z termostatu. Mezi výsledky první a druhé šarže nebyl zaznamenán statisticky významný rozdíl.

Současně probíhalo senzorické hodnocení sýrů. Byla použita pořadová zkouška a hodnocení pomocí stupnice.

Vždy byly nejlépe hodnoceny sýry z lednice, a to ve všech posuzovaných kategoriích. Sýry uchovávané při pokojové teplotě byly hodnoceny o něco hůře a nejhorší hodnocení dostaly sýry z termostatu. Je tedy jasné, že vyšší teplota podporuje nežádoucí chemické změny v sýrech a jistě to souvisí s jejich chutností. Rozdíl mezi první a druhou šarží byl zanedbatelný.

Nakonec byly porovnány výsledky mezi stanovením pomocí SPME-GC a senzorickou analýzou. Bylo konstatováno, že teplota ovlivňuje obsah aromatických látek v sýrech a že změna obsahu aromatických látek má vliv na senzorickou jakost tavených sýrů.

KLÍČOVÁ SLOVA

Tavené sýry, SPME, GC, chutnost, senzorická analýza

ABSTRACT

The aim of this diploma thesis was to monitor influence of storage conditions namely temperature and time on content of aromatic substances at sterilized processed cheeses and also on their flavour. Processed cheeses were produced by Madeta, a. s. on November 8th 2005.

The temperature of sterilization was 117 °C 20 minutes. Part of cheeses was stored in a fridge at 6°C, part at room temperature 23 °C and part in the thermostat at 40 °C. The analysis was made after 16 and 23 months of storage. .

The aroma compounds were isolated from sample cheeses via method SPME – solid phase microextraction. The fiber CARTM/PDMS with polar stationary phase was used. Subsequently aroma compounds were identified and quantified using standards by gas chromatography. In total 37 aroma compounds were identified and quantified, 7 aldehydes, 7 ketones, 6 acids, 12 alcohols and 5 esters.

Total content of aroma compounds uniquely increases with higher storage temperature. While total content was decreased after 16 months against previous determination (12 month), after 23 months of storage content increased again. The time of storage has also influence on content of aroma compounds, we may say, that content is increasing, although smart growth was listed up to 23 months, namely in the thermostat. Between first and second charge wasn't listed statistically significant difference.

Simultaneously sensory analysis of cheeses was made. ordinal test and evaluation via scale were used.

cheeses from a fridge were always evaluated as the best, in all criticized categories. Cheeses stored at room temperature were evaluated worse and cheeses from thermostat were the worst. So it is apparent, that high temperature supports undesirable chemical changes at cheeses and certainly it coheres with their flavour. Difference between first and second charge was insignificant.

At the end results between determination via SPME-GC and sensory analysis were compared. We concluded that temperature influences content of aroma compounds at cheeses and that change of content of aroma compounds have effect on sensory quality of processed cheeses.

KEYWORDS

Processed cheeses, SPME, GC, flavour, sensory analysis

ŠTOURAČOVÁ, A. *Vliv podmínek a doby skladování na obsah aromaticky aktivních látek ve sterilovaných tavených sýrech*. Brno, 2008. 70 s. Diplomová práce na Fakultě chemické Vysokého učení technologického v Brně, Ústavu chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí diplomové práce Ing. Eva Vítová, Ph.D.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně a že jsem všechny použité literární zdroje správně a úplně citovala. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být použita ke komerčním účelům pouze se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis diplomanta

Poděkování:

Ráda bych poděkovala především Ing. Evě Vítové, Ph.D a Ing. Blance Loupancové za cenné rady a připomínky. Také děkuji všem, kdo mě při psaní diplomové práce jakkoli podporovali.

OBSAH

1. ÚVOD	10
2. TEORETICKÁ ČÁST	11
2.1 Sýry obecně	11
2.1.1 Mléko jako surovina pro výrobu sýrů	11
2.1.2 Technologické operace při výrobě přírodních sýrů	11
2.1.3 Rozdělení sýrů	13
2.2 Tavené sýry	14
2.2.1 Charakteristika tavených sýrů	14
2.2.2 Výživové vlastnosti	14
2.2.3 Rozdělení tavených sýrů	15
2.2.4 Chemické složení tavených sýrů	15
2.2.5 Technologie výroby tavených sýrů	17
2.2.5.1 Příprava směsi určené k tavení	17
2.2.5.2 Určení složení tavicích solí	17
2.2.5.3 Proces tavení	19
2.2.5.4 Balení, chlazení, skladování a expedice	19
2.3 Termosterilace	20
2.3.1 Vliv teploty sterilace na složky tavených sýrů	20
2.3.2 Vliv skladování na jakost tavených sýrů	21
2.4 Aromaticky aktivní látky	22
2.4.1 Aromaticky aktivní látky v sýrech	22
2.4.2 Aromaticky aktivní látky vznikající v tavených sýrech	23
2.5 Senzorická analýza	24
2.5.1 Základní rozdíl mezi senzorickou a fyzikální nebo chemickou analýzou	24
2.5.2 Hodnotitel (posuzovatel) při senzorické analýze	25
2.5.3 Použité laboratorní metody senzorické analýzy potravin	25
2.6 Metoda stanovení aromatických látek	25
2.6.1 Mikroextrakce tuhou fází (SPME)	25
2.6.1.1 Výběr vhodného vlákna	26
2.6.1.2 Sorpce a desorpce	26
2.6.1.3 Optimalizace	29
2.6.1.4 Vláknó Carboxen TM /Polydimethylsiloxane (CAR TM /PDMS)	29
2.6.2 Plynová chromatografie	29
2.6.2.1 Součásti plynového chromatografu	30
2.6.2.2 Kvalitativní analýza	32
2.6.2.3 Kvantitativní analýza	32
3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	33
3.1 Laboratorní vybavení	33
3.1.1 Chemikálie	33
3.1.2 Plyny	34
3.1.3 Přístroje	34
3.1.4 Pracovní pomůcky	34
3.2 Analyzované vzorky	35
3.2.1 Příprava vzorků pro analýzu aromatických látek	35

3.3 Metoda extrakce aromatických sloučenin.....	35
3.3.1 Podmínky SPME.....	36
3.4 Metoda stanovení aromatických látek.....	36
3.4.1 Podmínky GC analýzy	36
3.5 Výběr vhodné metody pro kvantifikaci.....	36
3.5.1 Výpočet koncentrace aromatických látek ze vzorků sýrů.....	37
3.6 Hodnocení organoleptických vlastností sýrů	37
3.7 Statistické zpracování výsledků	38
3.7.1 Instrumentální analýza	38
3.7.2 Senzorická analýza.....	38
4. VÝSLEDKY A DISKUSE	39
4.1 Stanovení aromaticky aktivních látek metodou SPME – GC	39
4.1.1 Identifikace a kvantifikace aromaticky aktivních látek.....	39
4.1.2 Porovnání aromaticky aktivních látek v závislosti na teplotě skladování.....	45
4.1.3 Porovnání jednotlivých skupin aromaticky aktivních látek na době skladování	46
4.1.4 Porovnání celkového množství aromaticky aktivních látek na době skladování....	52
4.1.5 Zhodnocení dosavadních výsledků	54
4.2 Senzorické hodnocení sýrů	55
4.2.1 Hodnocení pomocí stupnice	55
4.2.2 Pořadová zkouška.....	57
4.2.3 Zhodnocení dosavadních výsledků	58
4.3 Porovnání výsledků SPME – GC a senzorické analýzy.....	59
5. ZÁVĚR.....	61
6. POUŽITÉ LITERÁRNÍ ZDROJE	62
7. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ	65
8. SEZNAM PŘÍLOH.....	66

1. ÚVOD

Zatímco přírodní varianty sýrů byly známy a hodnoceny jako velmi cenná potravina už ve starověku před více než 2 000 lety, tavený sýr zdá se být zbrusu nový produkt, mající původ v 20. století, ačkoli je založený na přírodních sýrech¹. První písemné zmínky o pokusech vyrobit tavený sýr (tehdy ještě bez použití tavicích solí) se datují kolem roku 1895².

Tavené sýry jsou oblíbenou potravinou zejména v Česku, kde jejich spotřeba v roce 2004 byla 2,6 kg/obyvatele/rok, což je dvojnásobek spotřeby než ve většině starých členských zemí EU. Ve světě se na tavené sýry zpracovává 10-12 % přírodních sýrů³. První tavený sýr vyrobili v roce 1911 Gerber a Stettler ve Švýcarsku, ve Francii se začaly tavené sýry vyrábět v roce 1919 a v Německu v roce 1923. V Čechách zavedli tuto „novinku“ ve Vodňanech a prodávali ji pod značkou Simplon⁴.

V České republice je běžná výroba nesterilovaných, pouze pasterovaných tavených sýrů. Sterilované tavené sýry jsou zvláštní skupinou tavených sýrů, která byla vyvinuta ke speciálním účelům – pro stravování příslušníků Armády České republiky a členů Integrovaného záchranného systému v krizových stavech. Sterilované tavené sýry jsou součástí tzv. bojových dávek potravin (BDP), což jsou (zjednodušeně řečeno) balíčky obsahující potraviny pro daného člověka (vojáka) na 24 hodin. Jednotlivé potravinové komponenty (kromě sterilovaných tavených sýrů mezi ně patří také hotové pokrmky, sušenky, čokoláda a řada dalších) mají trvanlivost stanovenou Standardizační dohodou Severoatlantické aliance STANAG 2937 na nejméně 24 měsíců při okolní teplotě, což v podmínkách České republiky představuje přibližně pokojovou teplotu. V České republice vyrábí sterilované tavené sýry zejména pro tyto účely MADETA a. s.².

Vzhledem k tomu, že jsou tavené sýry zařazovány do skupiny tzv. neúdržných potravin²³, je třeba použít pro prodloužení jejich trvanlivosti vhodných konzervačních metod. Jediným možným způsobem, jak zvýšit trvanlivost tavených sýrů na dobu 26 měsíců, je termosterilace².

Aromaticky aktivní látky jsou veškeré vonné a chuťové látky působící na čichové a chuťové receptory⁵. Jsou buď přirozenou složkou potravin nebo vznikají v době skladování a zpracování potravin enzymovými a chemickými reakcemi⁶. Komplexní sensorický vjem chuti a vůně se dnes označuje anglickým slovem *flavour*, neboli aroma. Sensorická jakost je nejdůležitějším psychickým faktorem ve výživě člověka, zásadně ovlivňuje druh a množství konzumované potraviny⁵.

Tato práce se tedy zabývá vlivem podmínek skladování a teploty sterilačního záhřevu na obsah aromaticky aktivních látek ve sterilovaných tavených sýrech. Teoretická část je zaměřena hlavně na způsob výroby tavených sýrů a vznik a výskyt aromaticky aktivních látek v nich. Dále je zde stručně pojednáno o termosterilaci a metodě stanovení, tedy problematika SPME-GC. Nakonec je pojednáno o sensorické analýze. Experimentální část je věnována identifikaci a kvantifikaci aromatických látek a způsobu jejich stanovení. Nakonec jsou uvedeny získané výsledky a diskuse.

2. TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Sýry obecně

Sýry jsou tradiční produkty, člověk je poznal již před 8000 lety. Jsou to čerstvé nebo prozřálé výrobky, které byly získány oddělením tekutiny, syrovátky, po koagulaci mléka s různou tučností. Sýry v sobě tedy koncentrují základní složky sušiny mléka, především kasein a mléčný tuk⁷.

Ke koagulaci dochází působením enzymového preparátu nebo v důsledku změny pH do oblasti blízké pI (izoelektrický bod) kaseinu. Často je to kombinace obou faktorů. Neplatí to ale o všech druzích sýrů. Zvláštními skupinami jsou syrovátkové sýry, získané koagulací nebo koncentrováním syrovátky, tvarohy, které se řadí mezi čerstvé sýry s převahou kyselého srážení a v neposlední řadě tavené sýry, což jsou stručně řečeno tepelně ošetřené produkty založené na různých typech sýrů v rozdílném stupni zralosti⁷.

Delší trvanlivost sýrů oproti mléku je jedním z důvodů zpracování mléka na sýry. Tato trvanlivost je způsobena fermentací laktosy na kyselinu mléčnou, snížením aktivity vody, pH, nízký redox potenciál a přidavek soli. Povrch sýra je také většinou chráněn fólií, kůrou nebo nátěrem. V sýrech jsou koncentrovány nutričně nejcennější složky mléka⁷.

2.1.1 Mléko jako surovina pro výrobu sýrů

Základní surovinou u nás je kravské mléko, hodně druhů sýrů se vyrábí z kozího a ovčího mléka.

Velmi důležité pro výtěžnost výroby a složení sýra je chemické složení mléka. Složení kravského mléka a procentické zastoupení jednotlivých složek je znázorněno v tabulce 2.1. Obsah kaseinu určuje výtěžnost, poměr tuku a kaseinu rozhoduje o výsledném obsahu tuku v sušině. Schopnost enzymového srážení, nazývaná sýřitelnost, je ovlivňována hlavně obsahem vápenatých iontů. Obsah koloidní formy fosforečnanu vápenatého a kaseinu ovlivňuje pufrací schopnost mléka, změny pH v průběhu výroby sýrů jsou základním parametrem výroby.

Pro výrobu jsou nepříznivé změny ve složení mléka vyvolané zánětem mléčné žlázy. Může se tak zhoršit kvasnost mléka. Mléko musí být vhodné i z hlediska mikrobiologické kvality (závažná je přítomnost sporotvorných mikroorganismů, např. *Clostridium tyrobutyricum*)⁷.

2.1.2 Technologické operace při výrobě přírodních sýrů

Při příjmu mléka jsou případné mechanické nečistoty odstraněny **filtrací** nebo **centrifugací**.

Následuje **termizace**, která redukuje nežádoucí změny mléka při skladování za chladu.

Pasterace zajišťuje zdravotní nezávadnost suroviny. Používáme šetrnou pasteraci, vyšší teploty zhoršují sýřitelnost mléka a oddělování syrovátky.

Baktofugace (redukce spor *Clostridium tyrobutyricum* o 95 - 97 %) nebo **mikrofiltrace** (redukce až o 99,5 %) umožňují omezit přidavek KNO₃, který omezuje činnost koliformních bakterií a bakterií mléčného kvašení.

Tabulka 2.1: Složení kravského mléka⁸

<i>Složka</i>	<i>%</i>
Voda	87,00
Laktosa	4,70
Albuminy	0,52
Globuliny	0,05
Kasein	2,90
Tuk	3,70
Vápník	0,12
Fosfor	0,10
Draslík	0,15
Chlór	0,11
Kyselina citrónová	0,20

V průběhu tepelného ošetření se provádí **standardizace mléka**, což souvisí s různým poměrem obsahu bílkovin a tuku v mléce v různé roční době. Musíme hlídat požadovanou hodnotu obsahu tuku v sušině. **Homogenizace** je vhodná pro výrobu některých druhů čerstvých sýrů.

Přídavek *chloridu vápenatého* pro zlepšení syřitelnosti a zvýšení pevnosti vzniklého gelu. *Dusičnan draselný* se do mléka přidává kvůli snížení jejich duření, způsobeným činností koliformních bakterií a bakterií máselného kvašení. Zlepšení barvy sýrů lze dosáhnout pomocí některých *barviv*. Další aditiva mohou být složky pro *ochucení*.

Přídavek kyselých kultur bakterií mléčného kvašení je nezbytným předpokladem pro výrobu všech sýrů. Jejich funkcí je hlavně

- úprava kyselosti mléka;
- fermentace laktosy a tvorba kyseliny mléčné během koagulace a zpracování sraženiny, což má za následek do jisté míry i konzervační účinek, podílí se na koagulaci a podporuje odkapání syřeniny;
- uplatnění proteolytické a lipolytické aktivity v průběhu zrání;
- utváření organoleptických vlastností (tvorba kyseliny mléčné a dalších organických kyselin, aromatických sloučenin, např. biacetylu, produkty proteolýzy a lipolýzy);
- vliv na texturu a konzistenci (tvorba ok a proteolytické změny bílkovin).

Používá se mezofilní kultura. Nejdříve je fáze přezrání, kdy se pasterované mléko ochladí na 5 – 12 °C a očkuje se 0,01 – 0,05 % mezofilní kulturou, promíchá a nechá stát do druhého dne. Vlastní přídavek kultur pro výrobu následuje po ohřátí na teplotu syření (30 – 33 °C). Kultura se dává 30 – 45 min před syřením v množství 0,5 – 2 %.

Koagulace mléka – srážení kaseinu je základním procesem při výrobě sýrů. Kasein se sráží snížením pH na hodnotu blízkou pI nebo působením enzymů. V prvním případě jde o kyselé srážení, uplatňuje se jen u několika sýrů. K úpravě pH do izoelektrického bodu slouží nejčastěji kyselina mléčná, která vzniká in situ činností bakterií mléčného kvašení z laktosy. Popř. se okyseluje přídavkem kyseliny mléčné, octové, citronové nebo chlorovodíkové. Koagulace mléka syřidlem je založena na enzymovém štěpení specifické peptidové vazby v kaseinu. Aktivní složkou syřidla je enzym chymosin.

Zpracování sraženiny slouží k vytvoření sýrových zrn a k oddělení potřebného množství syrovátky ze struktury gelu.

Formování začíná oddělením syrovátky od sýrového zrna. Způsob oddělování syrovátky i další formování záleží na typu sýra (s tvorbou ok, s granulační texturou, s uzavřenou texturou, pařeného sýry).

Solení, které má vliv na výslednou chuť a ovlivňuje aktivitu kultur a enzymů při zrání sýrů.

Kromě nezrajících sýrů, které se konzumují v čerstvém stavu, procházejí všechny sýry procesem **zrání**. Zrání představuje komplexní souhrn změn způsobených syřidlovými enzymy, nativními enzymy, enzymatickou činností kultur a působením enzymů po lyzi jejich buněk, případně činností nezákysových kultur, při kterých sýr získává typický vzhled, konzistenci, chuť, vůni a složení. Primárními reakcemi, které zodpovídají za tyto změny a vznik aromatických složek, jsou glykolýza, proteolýza a lipolýza.

Technologické operace při výrobě sýrů různých typů jsou zaměřeny na regulaci aktivity kultur, na které závisí rozsah a rychlost fermentace laktosy. Fermentace laktosy probíhá v rámci tzv. předběžného zrání sýrů, tj. při zpracování mléka, syřeniny, solení a formování. Během 24 hodin je třeba dosáhnout požadované hranice kyselosti.

Rozklad bílkovin je charakteristickým znakem zrání u polotvrdých a tvrdých sýrů. Podílejí se na něm syřidlo, mikrobiální proteolytické enzymy a plasmin (nativní proteasa mléka).

Změny tuku jsou nejvýraznější u plísňových sýrů a to na základě reakcí uvolněných mastných kyselin⁷.

Při zrání se také výrazně mění konzistence sýrů, která tvoří jeden ze základních parametrů jakosti.

Zrání sýrů může probíhat

- v celé hmotě sýra (anaerobně);
- od povrchu dovnitř (aerobně) působením povrchové mikroflóry⁷.

2.1.3 Rozdělení sýrů

Sýry rozdělujeme například podle obsahu vody v tukuprosté hmotě, podle obsahu tuku v sušině (t. v. s.) a podle způsobu zrání.

Tabulka 2.2: Rozdělení sýrů podle obsahu vody v tukuprosté hmotě⁷

Sýr	Voda v tukuprosté hmotě* (%)
extra tvrdý	méně než 51,0
tvrdý	49,0 – 56,0
polotvrdý	54,0 – 69,0
měkký	nejméně 67,0

$$*Voda\ v\ tukuprosté\ hmotě = \frac{\text{obsah vody (hm. \%)} \cdot 100}{100 - \text{obsah tuku (hm. \%)}}$$

Tabulka 2.3: Rozdělení sýrů podle obsahu tuku v sušině⁷

<i>Sýr</i>	<i>Tuk v sušině (hm. %)</i>
vysokotučný	≥60
plnotučný	45 – 60
polotučný	25 – 45
nízkotučný	10 – 25
odtučněný	< 10

Podle způsobu zrání rozeznáváme:

- sýry nezrající (čerstvé) včetně tvarohů;
- sýry zrající;
- plísňové sýry⁷.

2.2 Tavené sýry

2.2.1 Charakteristika tavených sýrů

Tavené sýry jsou nejmladší skupinou sýrů. Začaly se vyrábět až na začátku minulého století (poprvé v r. 1911), zatímco o konzumaci přírodních sýrů nacházíme zmínky u všech starověkých národů a oblíbeným pokrmem byly i u starých Čechů. Důvodem pro jejich vývoj byla snaha o prodloužení trvanlivosti přírodních sýrů. Postupem doby se přidaly i důvody další - možnost použití tavených sýrů jako pomazánky na pečivo a možnost vyrobit obrovský počet různých variant chutí, tvarů a fyzikálních vlastností (měkké, tuhé, dobře roztíratelné). Tavené sýry jsou oblíbenou potravinou zejména v Česku, kde jejich spotřeba v roce 2004 byla 2,6 kg/obyvatele/rok, což je dvojnásobek spotřeby než ve většině starých členských zemí EU. Ve světě se na tavené sýry zpracovává 10-12 % přírodních sýrů³. První tavený sýr vyrobili v roce 1911 Gerber a Stettler ve Švýcarsku, ve Francii se začaly tavené sýry vyrábět v roce 1919 a v Německu v roce 1923. V Čechách zavedli tuto „novinku“ ve Vodňanech a prodávali ji pod značkou Simplon⁴.

Jakostní tavený sýr je smetanově žlutý, konzistence může být tuhá (lomivá), polotuhá nebo roztíratelná a ovlivňuje ji obsah sušiny, obsah tuku či druh tavicí soli. Chuť a vůně je sýrová, u tučných sýrů až máslová, povrch celistvý hladký, tvar pravidelný. Míra nepravidelnosti tvaru a drobné dutinky nemikrobiálního původu v hmotě nejsou vadou⁹.

2.2.2 Výživové vlastnosti

Z výživového hlediska si na sýrech ceníme nejvíce vysoký obsah vápníku, minerálních látek, vitamínů A, D, E a skupiny B a plnohodnotných bílkovin. Správně vyrobený čerstvý sýr má velmi příjemné organoleptické vlastnosti¹⁰.

Avšak tavené sýry jsou z hlediska nutričních složek méně hodnotné. Tavicí soli zhoršují příznivý poměr fosforu a vápníku. Také je v tavených sýrech vysoký obsah sodíku. Tavení však nezpůsobuje hydrolytické (degradační) změny bílkovin, významné nejsou ani změny v obsahu vitamínů⁷.

2.2.3 Rozdělení tavených sýrů

Podle konzistence:

- Blokové tavené sýry – požaduje se vysoká sušina vzhledem ke vztahu k t. v. s.;
- Tavené plátkové sýry
 - Se schopností opětovného tavení, surovinou je mladý sýr;
 - K přímému kozumu;
- Tavené sýry krájitelné, příp. s lomem – klasický sortiment tavených sýrů;
- Roztíratelné tavené sýry
 - Tavené sýry, u kterých neproběhl proces krémování;
 - Tavené sýry roztíratelné s krémovou konzistencí;
- Termostabilní tavené sýry¹¹.

Vyhláška ministerstva zemědělství č. 77/2003 Sb. udává následující dělení tavených sýrů podle obsahu tuku v sušině:

- *Vysokotučné* s obsahem nejméně 60 % (w/w) tuku v sušině;
- Tavené sýry s obsahem 30 – 60 % (w/w) tuku v sušině (nepojmenovaná podskupina);
- *Nízkotučné* s obsahem nejvýše 30 % (w/w) tuku v sušině¹².

2.2.4 Chemické složení tavených sýrů

V sýrech jsou nejvíce zastoupeny mléčné bílkoviny, mléčný tuk, mléčný cukr, minerální látky, vitamíny a enzymy¹¹. Chemické složení tavených sýrů je ale značně proměnlivé, především podle obsahu sušiny, tuku v sušině, přísadků polysacharidů a sušených produktů¹³.

Bílkoviny

Hlavní část *bílkovin* tvoří kasein, což je komplex fosfoproteinových frakcí syntetizovaný mléčnou žlázou. Základními frakcemi jsou α_s -, β - a κ -kasein. α_s -kaseiny jsou hlavní složkou kaseinové frakce. α_{s1} -kaseiny se skládají ze 199 aminokyselin, α_{s2} -kaseiny z 207 aminokyselin. β -kaseiny obsahují 209 aminokyselinových jednotek. κ -kaseiny obsahují v molekule kromě fosforu a 169 aminokyselin také D-galaktopyranosu, N-acetyl-D-galaktosamin a N-acetylneuraminovou kyselinu. κ -kasein tvoří s vápenatými ionty rozpustné soli stabilizující ostatní frakce v přítomnosti vápenatých solí.

Působením proteolytických enzymů v syřidle (chymosinu) dochází k rozštěpení κ -kaseinu, ten ztratí ochranný vliv a všechny frakce se tak vysráží jako vápenaté soli. Tento proces se využívá při výrobě tzv. sladkých sýrů, ze kterých vyrábíme tavené sýry¹⁴.

Dalšími bílkovinami jsou syrovátkové bílkoviny, které ovšem přecházejí v procesu syření do syrovátky, nejsou tedy obsaženy v přírodních ani tavených sýrech ve významném množství².

Kaseiny v mléce představují 80 % bílkovin a syrovátkové proteiny zbylých 20 %¹⁵.

Kaseiny v mléce se nenacházejí ve formě monomerů, ale jsou agregovány do micel a kaseinových komplexů. Micela kravského mléka obsahuje asi 20 000 molekul kaseinů, z toho kaseiny tvoří asi 93 %, vápenaté ionty asi 3 %, anorganický volný fosfát asi 3 %, vázaný fosfát (fosfoserin) 2 %, 0,4 % citrát a 0,5 % sodné, draselné a hořečnaté ionty¹⁵.

Z esenciálních aminokyselin je v bílkovinách odstředěného mléka přítomen především leucin (9,5 g), lysin (7,8 g), valin (5,8 g), a fenylalanin (5,4 g), v menším množství pak

isoleucin (4,7 g), threonin (4,5 g), methionin (2,5 g) a tryptofan (1,4 g). Všechny hodnoty jsou uvedeny ve 100 g bílkoviny. Využíváme je při kontrole plnohodnotnosti bílkovin⁵.

Proteolýza je nezbytná pro získání žádoucí textury, chuti a vůně sýrů⁵.

Lipidy

Mléčný tuk patří mezi nejlépe stravitelné tuky, které se v organismu rychle resorbují¹⁶. Skládá se z mono-, di- a triacylglycerolů, volných mastných kyselin, fosfolipidů, sterolů, esterů sterolů, uhlovodíků a vitamínů rozpustných v tucích. 98 % z celkových lipidů mléka však tvoří triacylglyceroly¹⁴.

Co se týká mastných kyselin, z nasycených tvoří největší podíl kyselina palmitová, stearová a myristová, z nenasycených pak olejová. Pro mléčný tuk je typický vysoký podíl nízkomolekulárních mastných kyselin, jako máselné, kapronové a kaprylové, které dodávají mléčnému tuku typickou chuť a vůni¹⁴.

Také částečná lipolýza mléčného tuku mléčnými lipasami je nezbytná pro získání žádoucí textury, chuti a vůně sýra⁵.

Sacharidy

Ze sacharidů je hlavním zástupcem laktosa neboli mléčný cukr. Je to disacharid, tvořený α -D-glukosou a β -D-galaktosou spojených β -(1 \rightarrow 4) glykosidickou vazbou¹¹. Laktosa má pozitivní vliv na absorpci vápníku¹⁴. Laktosa z mléka je ale v sýrech obsažena jen ve velmi malém množství. Většinou je zcela převedena na kyselinu mléčnou a další produkty kvašení¹⁷.

Minerální látky

Mléko obsahuje asi 0,7 – 0,8 % minerálních solí, které jsou zčásti ve formě pravých roztoků (chloridy, fosforečnany, citronany) a zčásti ve formě koloidní vázány na kasein. Sýry jsou na minerální látky velmi bohaté, oproti smetaně a máslu¹⁶.

Nejvýznamnější minerální látkou v sýrech je bezpochyby vápník. Jeho obsah je závislý na obsahu sušiny sýra a způsobu výroby. Důležitá je schopnost využitelnosti vápníku v trávicím traktu, která se např. se zvýšeným příjmem fosforu snižuje². Vápník je z kvantitativního hlediska hlavní minerální látkou v lidském těle. Jeho celkový obsah činí asi 1500 g, kdy 99 % z toho je obsaženo v kostech a zubech ve formě fosforečnanu vápenatého. V sýrech se jeho obsah pohybuje mezi 1500 – 12000 mg.kg⁻¹⁵. Dále jsou sýry dobrým zdrojem chloru, draslíku, fosforu, zinku, jódu, selenu nebo sodíku^{14,5}.

Vitamíny

Obsah vitamínů přítomných v mléce se během zpracování na sýry mění. Stoupá obsah vitamínu A a E, B₂ (riboflavinu) a B₅ (pantotenové kyseliny). Je to způsobeno zejména činností mikroorganismů a jejich zkoncentrováním¹⁴.

2.2.5 Technologie výroby tavených sýrů

Výroba tavených sýrů se dá rozdělit na čtyři fáze:

- a) Příprava směsi určené k tavení
- b) Určení složení tavicích solí
- c) Vlastní proces tavení připravené směsi
- d) Balení, chlazení, skladování, expedice²

2.2.5.1 Příprava směsi určené k tavení

Tavené sýry nejsou klasickým primárním výrobkem z mléka. Jedná se o další formu úpravy tvrdých přírodních sýrů pro dosažení požadovaných vlastností, zejména trvanlivosti a krémovité konzistence⁴.

Základem pro výrobu tavených sýrů je správné sestavení vstupních surovin podle příslušných receptur, které jsou „výrobním tajemstvím“ každé tavrny sýrů. Obvykle takovou recepturu tvoří několik základních ingrediencí – největší podíl mají přírodní sýry (např. Eidam, Ementál, Čedar, Moravský blok, ...), dále to jsou tvaroh, máslo, smetana, sušené mléko, voda a popř. ochucující složka (šunka, niva, zelenina apod.)⁴.

Z důvodu vytvoření požadované struktury tavených sýrových bloků nebo plátkových tavených sýrů je nutný vyšší podíl nehydrolyzovaného proteinu. Doporučuje se tedy pro sýry tohoto typu podíl přírodních sýrů: 30 – 40 % nezralých sýrů bezprostředně po výrobě, 50 – 60 % mírně zralých sýrů a 10 % zralých přírodních sýrů. Naopak pro výrobu roztíratelných sýrů se doporučují sýry s již částečně hydrolyzovaným proteinem. Poměr pak může být např.: 30 % nezralých sýrů a 70 % středně zralých až zralých přírodních sýrů¹⁸.

2.2.5.2 Určení složení tavicích solí

Při zahřátí přírodního sýru na teplotu pastérace (85 °C) se směs rozdělí na 3 fáze – vysráženou bílkovinu, vodní fázi a oddělený volný tuk, proto tento proces není jen tak možný. Používá se přídavek tavicích solí. Proces tavení zajišťuje prodloužení omezené trvanlivosti prozrálé sýrové suroviny, možné využití sýrů neupotřebitelných pro přímý konzum a přínos mnoha různých variant výrobků na trh⁷.

Je prokázáno, že čím je surovina prozrálejší, tím méně tavicích solí je třeba, ale nelze je ve výrobním procesu vynechat¹⁷.

Tavicí soli zajišťují výměnu vápenatých iontů v tavenině za sodné popř. draselné, rozpouštějí bílkoviny, emulgují tuk, podílejí se na vazbě vody a upravují pH. Jsou obvykle slabě alkalické (sůl silné zásady a slabé kyseliny) s jednomocným kationem a vícemocným anionem. Používají se sodné soli kyseliny citronové (nižší výměna vápenatých iontů, posunutí pH, příznivé ovlivnění chuti), fosforečné, difosforečné (posunutí pH, negativní ovlivnění chuti) a polyfosforečnany (vysoká výměna iontů, prodloužení trvanlivosti). Tavicí soli se používají obvykle ve směsi⁷.

Určení směsi tavicích solí, které obvykle tvoří 2 – 3 % hmotnosti surovin, závisí hlavně na charakteru přírodních sýrů, charakteru ostatních surovin, pH a na požadovaných vlastnostech výsledného sýra².

Fosforečné soli:

Váží větší množství vápníku, používají se pro výrobu roztíratelných tavených sýrů¹⁹.

Citrátové soli:

Mají menší schopnost vázat vápník z bílkovin, používají se pro výrobu sýrů s tužší lomivou konzistencí¹⁹.

Tabulka 2.4: *Obecný přehled složek jiných než sýry pro výrobu tavených sýrů a tavených sýrových výrobků¹²*

<i>Složka jiná než sýr</i>	<i>Tavený sýr a tavený roztíratelný sýr</i>		<i>Tavený sýrový výrobek</i>
	<i>Druhově pojmenovaný</i>	<i>Druhově nepojmenovaný</i>	
<i>Máslo, máselný tuk, smetana, máselný koncentrát</i>	Pouze pro standardizaci obsahu tuku	ano	ano
<i>Ostatní mléčné složky</i>	ne	ano (obsahuje nejvýše 5 % hm. laktózy ve finálním taveném sýru)	ano (51 % hm. sušiny pochází ze sýra)
<i>Jedlá sůl</i>	ano	ano	ano
<i>Bakteriální kultury</i>	ano	ano	ano
<i>Enzymy*</i>	ano	ano	ano
<i>Cukry (sacharidy se sladícím účinkem)</i>	ne	ne	ano
<i>Koření a sezónní zelenina</i>	Podle druhu výrobku a v množství, které postačuje, aby dodalo konečnému výrobku charakteristickou chuť		
<i>Ostatní zdravotně nezávadné potraviny</i>	ano	ano (v množství nepřekračujícím 1/6 celkového obsahu sušiny konečného výrobku a za předpokladu, že mají dodávat pouze charakteristickou chuť a že se nejedná o cukry)	ano
* zdravotně nezávadné se specifickými účinky			

Na druhu a množství použité tavicí soli závisí kvalita konečného výrobku – zejména krémovitost, lesk a roztíratelnost tavených sýrů, což vyplývá i z tabulky 2.5. Toto dávkování není jednoznačně dáno a musí být případně upraveno podle stadia zralosti vstupních surovin . To činí z tavení sýrů určitý druh „kuchařského umění“⁴.

Tabulka 2.5: *Vliv jednotlivých složek tavicích solí na tavený sýr¹⁷*

	<i>citrát</i>	<i>orthofosfát</i>	<i>polyfosfát</i>
výměna iontů	*	*	**
posun pH	**	**	**
krémování	0	0	**
změna barvy	neg. *	0	0
ovlivnění chuti	**	neg. *	0
trvanlivost	0	0	**

0 – žádný vliv

* - normální reakce

** - výrazná reakce

2.2.5.3 Proces tavení

Vlastní tavení připravené směsi může probíhat buď diskontinuálním nebo kontinuálním způsobem². Vedle přírodních sýrů a tavicích solí jsou dalšími surovinami pro výrobu bílkovinné složky (tvaroh, kaseinát, sušené mléko), mléčný tuk (máslo, smetana), voda, ochucující přísady, popř. další konzervační a stabilizující složky⁷.

Diskontinuální způsob:

Vlastní tavení probíhá v tavičkách. Teplota tavení je různá, podle autorů. Např. CARÍČ et al.¹⁸ udávají 71 – 95 °C, podle GAJDŮŠEK²⁰ je to 75 – 90 °C, podle FORMAN¹⁷ a ČEPIČKA²¹ je to 85 – 95 °C a KADLEC⁷ udává 80 – 95 °C, taví se po dobu 4 – 15 min. Podle vyhlášky Ministerstva zemědělství č. 287/1999 Sb., o veterinárních požadavcích na živočišné produkty, musí být při výrobě tavených sýrů dosaženo teploty nejméně 80 °C. Dochází zároveň k pasteraci sýru².

Kontinuální způsob:

Provádí se v antikorozních ocelových trubkách při teplotě 130 – 145 °C po dobu 2 – 3 s. Sýr je zároveň sterilován¹⁸.

Roztíratelné sýry potřebují vyšší teploty, delší dobu tavení a vyšší přídavek náavku, což je sýr z předchozího tavení⁷.

2.2.5.4 Balení, chlazení, skladování a expedice

V ČR se tavené sýry balí většinou do hranolovitých nebo trojúhelníkových forem, vyložených hliníkovou fólií, která je z vnitřní strany lakovaná. Je důležité, aby se tavenina balila co nejdříve po utavení (teplota by neměla klesnout pod 60 – 70 °C), čímž se omezí možnost kontaminace mikroorganismy. V současnosti se používají i jiné obalové materiály, jako např. laminované hliníkové obaly, tuby, plasty, kelímky, sklenice, konzervy apod. Zabalený sýr se po vychlazení pod 8 °C balí do transportních obalů a je odeslán do chlazených skladů. Důležitým faktorem pro mikrobiologickou jakost je také rychlost chlazení. Po výrobě kontinuálním způsobem je důležité aseptické balení, aby byla zachována sterilita².

Skladování je v suchých prostorách při teplotě 4 až 8 °C. Trvanlivost závisí na způsobu ošetření výrobku. Výrobky pasterované (95 °C) mají trvanlivost 4 až 8 týdnů od data výroby, sýry sterilované (130 až 140 °C) mají trvanlivost podstatně delší⁹.

2.3 Termosterilace

Neboli přímá inaktivace mikroorganismů. Tepelná sterilizace je abiotická metoda, ve které jsou potraviny zahřáty na dostatečně vysokou teplotu a po dostatečně dlouhý čas na to, aby došlo k tepelné denaturaci mikrobiální a enzymové aktivity. Následkem toho jsou sterilizované potraviny skladovatelné více než šest měsíců. Vysoká teplota během sterilizace způsobuje značné změny v nutričních a organoleptických vlastnostech potravin. Vývojové trendy ve zpracovacích technologiích se proto snaží redukovat poškození nutriční a senzorické hodnoty, buď snižováním doby zpracování nebo zpracováním potravin před balením (aseptické zpracování)²².

Pokud dojde pouze k usmrcení vegetativních stadií určitých mikroorganismů a ne jejich spor, jde jen o pasteraci, nikoli o sterilaci²³.

Sterilační teplota, doba jejího dosažení, trvání a poklesu tvoří dohromady tzv. sterilační režim. Ten se odvozuje ze smrtících (letalitních) čar mikroorganismů, které na dané potravině mohou být.

Kterákoli postačující kombinace teploty a času odečtená z letalitní čáry musí zasáhnout každé místo výrobku, tedy i střed. Z toho důvodu jsou někdy zbytečně přehřívány povrchové vrstvy výrobku. Musí se tedy počítat i s dílčím účinkem teplot při jejich vzestupu a poklesu²⁴.

U termosterilace hraje velkou roli i pH potravin. U kyselých potravin s pH nižším než 4, v nichž nemohou vegetovat sporotvorné bakterie (*klostridia* a *bacily*) se sterilačního účinku dosahuje působením teplot do 100 °C. Ale potraviny s pH > 4 je třeba sterilovat při podstatně vyšších teplotách, většinou kolem 120 °C. Těchto teplot lze dosáhnout v přetlakových zařízeních, tedy v autoklávech²⁴.

Dalšími faktory, které ovlivňují termosterilaci jsou vlhkost prostředí, ve kterém se mikroorganismy nacházejí, výchozí koncentrace mikroorganismů nebo doba, po kterou teplota působí²³.

Sterilace normálním zahříváním se děje dvěma základními postupy, i když zařízení a technika provedení může být velmi různorodá:

- potravina se naplní do obalu, v němž se hermeticky uzavře a zahřívá se tak, aby se usmrtily všechny přítomné organismy a spory, které by se mohly v náplni obalu množit;
- potravina se zahřívá mimo obal a poté se asepticky plní do sterilních obalů, ty se asepticky uzavrou a již se nezahřívají, ale naopak chladí²⁴.

Termosterilace je velmi obvyklý, pohodlný a osvědčený způsob konzervace potravin, který nevyžaduje nákladné investice. Lze ji aplikovat v mnoha variantách, u nejrozličnějších kyselých i nekyselých potravin. Termosterilace zůstane patrně i v budoucnu základní abiotickou konzervační metodou.

2.3.1 Vliv teploty sterilace na složky tavených sýrů

Je jasné, že ve sterilovaných sýrech, které jsou hermeticky uzavřeny, budou probíhat pouze reakce, pro které nejsou nutné enzymy jako biokatalyzátory. Z živin se v tavených sýrech nacházejí především bílkoviny (kaseiny), tuk a zbytky laktosy. Všechny tyto složky podléhají při sterilačních teplotách degradačním změnám.

Již při 100 °C dochází k reakci asparaginu a glutaminu s vázaným lysolovým postranním řetězcem, dojde k odštěpení amoniaku a k zesíťování proteinů. Takto vázaný lysin není využitelný v trávicím traktu člověka^{2, 5, 25}. Další ztráty aminokyselin (AMK) jsou způsobeny tzv. Streckerovou degradací aminokyselin. Z AMK vzniká karbonylová sloučenina obsahující o jeden uhlík méně než původní, dále oxid uhličitý a amoniak. Reakci iniciují oxidační činidla, např. hydroperoxydy mastných kyselin a jiné produkty oxidace lipidů či produkty Maillardovy reakce⁵.

Nejvýznamnější reakcí bílkovin při sterilačním záhřevu je Maillardova reakce. Tzv. reakce neenzymového hnědnutí. Je to velice složitý, dodnes ne zcela popsáný komplex reakcí, začínající reakcí redukcí sacharidu s aminosloučeninami, především aminokyselinami. Dále mohou do této reakce vstoupit biogenní aminy nebo karbonylové sloučeniny. Hlavním znakem Maillardovy reakce je vznik pigmentů – melanoidů, které jsou hnědé (proto neenzymové hnědnutí). Může dojít i k zesíťování proteinů⁵. Na průběh Maillardovy reakce má vliv řada faktorů, především teplota, doba sterilace, pH prostředí, aktivita vody, druh reaktantů apod. Maillardova reakce snižuje z hlediska výživy člověka nutriční hodnotu potravin. Navíc řada meziproductů i produktů jsou klasifikovány jako účinné karcinogeny či mutageny. Na druhou stranu mohou vznikat i antioxidanty, ale většinou to nevyváží úbytek aminokyselin, který je značný.

Za běžných teplot podléhají pouze nenasycené mastné kyseliny (MK) oxidaci kyslíkem. Při vyšších teplotách může dojít také k autooxidaci nasycených mastných kyselin radikálovou řetězovou reakcí. Primárně vznikají hydroperoxydy MK, sekundárně pak aldehydy, cyklické peroxidy, uhlovodíky a další⁵. Oxidované lipidy reagují mezi sebou, ale i s nelipidovými složkami potravin, hlavně s proteiny.

Významným faktorem, který ovlivňuje jak autooxidaci lipidů, tak řadu reakcí proteinů je koncentrace přítomného kyslíku²⁵.

Na základě výše popsaných skutečností je jasné, že v důsledku sterilačních teplot dojde v tavených sýrech ke vzniku těkavých látek, které také ovlivňují senzoryckou jakost².

Dalším vlivem teploty je nebezpečí dehydratace u nadměrně zahřívání tavených sýrů (140 °C) nebo krystalizace některých složek, zejména tavicích solí. Co se týká vitamínů, riboflavin, niacin a vitamin A teplota neovlivňuje, thiamin a pyridoxin jsou snižovány².

2.3.2 Vliv skladování na jakost tavených sýrů

Změny jakosti při skladování sterilovaných tavených sýrů jsou ovlivňovány hlavně podmínkami při skladování a tavení, složením taveného sýra a obalovým materiálem.

Hlavním procesem který probíhá během skladování je hydrolýza polyfosfátových tavicích solí. Hydrolýza začíná již při samotném procesu tavení a po 7 až 10 týdnech skladování je hydrolyzována již většina přítomných polyfosfátů. Dojde k postupnému uvolňování vápenatých iontů z tavicích solí a jejich zapojování do zesíťování proteinové matrice, důsledkem toho dochází k tunutí tavených sýrů během skladování. Dalším následkem hydrolýzy polyfosfátových tavicích solí je snižování pH tavených sýrů., což vede rovněž ke zvýšení tuhosti. Můžeme tedy říci, že s vyšší teplotou a délkou skladování intenzita tunutí tavených sýrů roste².

Naproti tomu skladování při nižších teplotách může vést k tvorbě krystalů tavicí soli, popř. krystalů tyrosinu, laktosy nebo laktátu¹⁸.

Vliv na barvu sýrů má také působící světlo, avšak menší než teplota nebo délka skladování.

Během skladování se mění koncentrace těkavých látek v tavených sýrech, což způsobuje změnu aromatických vlastností sýrů. Vznikají hlavně aldehydy, ketony a alkoholy. Hlavními prekursory pro vznik aromatických látek v sýrech jsou lipidy, laktosa a proteiny. Bylo zjištěno, že nejvyšší vliv na obsah aromatických látek má délka skladování²⁶.

Dalším z procesů ovlivňujících jakost je oxidace lipidů, tzv. žluknutí. Jedná se hlavně o autooxidační procesy účinkem vzdušného kyslíku a světla, kde vznikají z nenasycených MK příslušné peroxidy¹⁵.

Konečně může dojít i ke změně obsahu vitamínů (zejména riboflavinu)².

2.4 Aromaticky aktivní látky

Vůně, chuť, barva a celkový vzhled jsou důležitými organoleptickými vlastnostmi potravin. Aromaticky aktivní látky jsou veškeré vonné a chuťové látky. Jsou buď přirozenou složkou potravin nebo vznikají v době skladování a zpracování potravin enzymovými a chemickými reakcemi. Aromaticky aktivní látky lze nalézt v každé skupině organických sloučenin⁶.

Organoleptické vlastnosti mají běžně pro konzumenta větší význam, než jiné důležitější atributy (např. obsah vitamínů), protože je to první informace, podle které si konzument vytvoří celkový dojem o potravine⁵.

Podle původu lze aromaticky aktivní látky rozdělit do dvou základních skupin:

- **Primární** – jsou již přítomny v potravinách (surovinách) živočišného, rostlinného nebo jiného původu jako produkty sekundárního metabolismu; jsou tedy sekundárními metabolity produkovanými vnitrobuněčnými procesy; jejich kvalita a kvantita závisí na genetických dispozicích daného organismu;
- **Sekundární** – vznikají během skladování a zpracování potravin jako produkty enzymových a neenzymových reakcí bílkovin, sacharidů, lipidů, popř. dalších chemických složek potravin⁵.

Komplexní sensorický vjem chuti a vůně vyvolaný současně vonnými i chuťovými látkami se označuje jako *flavour*⁵.

2.4.1 Aromaticky aktivní látky v sýrech

Chuť a vůně sýru není tvořena malým počtem sloučenin charakteristického účinku, ale je výsledkem rovnováhy komplexu sloučenin²⁷.

Těkavé aromatické látky různých mléčných výrobků jsou dnes v centru pozornosti. V sýrech bylo dosud identifikováno více než 600 těkavých látek, ale jen malá část z nich je skutečně zodpovědná za chutnost sýrů. V mnoha případech nejvíce zastoupené sloučeniny mají malý, někdy žádný, vliv na vůni²⁸.

Charakteristickými aromatickými látkami sýrů, u kterých došlo k mléčnému kvašení, jsou produkty metabolismu mléčných bakterií. Jsou to zejména biacetyl, acetaldehyd, dimethylsulfid, kyselina mléčná, octová, různé aldehydy, ketony a estery⁵.

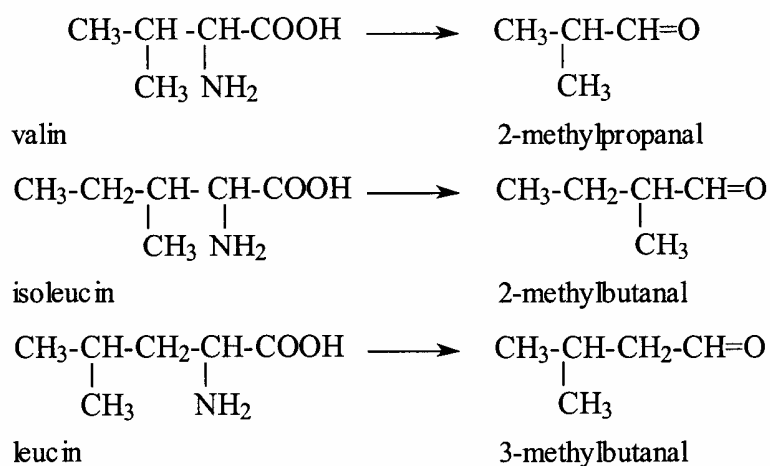
2.4.2 Aromaticky aktivní látky vznikající v tavených sýrech

Aldehydy

Prekurzory mnoha senzoricky významných aldehydů jsou běžné aminokyseliny nebo nenasycené mastné kyseliny přítomné v lipidech⁵.

Aldehydy s lineárním řetězcem, jako n-butanal, n-pentanal, n-hexanal nebo n-nonanal jsou v sýrech běžné a vznikají β -oxidací nenasycených mastných kyselin²⁸.

Aldehydy s rozvětveným řetězcem pravděpodobně vznikají degradací aminokyselin enzymatickou cestou nebo tzv. Steckerovou degradací neenzymatickou cestou, což je oxidace aminokyselin oxidačními činidly za vzniku karbonylové sloučeniny, která je o jeden uhlík kratší, než byla původní aminokyselina²⁸.



Aldehydy jsou v sýrech jen přechodně, velmi rychle jsou redukovány na primární alkoholy nebo mohou být oxidovány na odpovídající kyseliny²⁸.

Ketony

Ketony se běžně vyskytují ve většině mléčných výrobků. Důležitou složkou, i ze senzorického hlediska, je okt-1-en-3-on. Tato sloučenina je výraznou vonnou složkou u sýrů, jako např. Camembert, Čedar nebo Ementál, které zrají po dobu 4 měsíců.

Butan-2,3-dion (biacetyl) je nejdůležitější z diketonů. Získává se z pyruvátu pocházejícího z metabolismu laktosy a citrátů. Je tvořen hlavně díky aktivitě bakterií mléčného kysání²⁸.

Mnohé ketony se vyznačují charakteristickým pachem, proto se uplatňují jako žádoucí nebo nežádoucí složky různých aromat⁵.

Alkoholy

Do biosyntézy alkoholů je zapojeno mnoho metabolických drah, jako metabolismus laktosy, redukce methylketonů, metabolismus aminokyselin, ale také degradace linolové a linolenové kyseliny. Nejběžnějším alkoholem, identifikovaným jako klíčový vonný alkohol, je v sýrech okt-1-en-3-ol²⁸.

Aminy

Aminy jsou strukturně odvozeny od amoniaku substitucí. Jsou významnými vonnými látkami u nekyselých potravin živočišného původu, tedy i u sýrů. V sýrech se vyskytuje nejvíce amoniaku (16440 mg.kg^{-1})⁵.

Aminy vznikají v potravinách nejčastěji jako produkty dekarboxylace aminokyselin katalyzované nespecifickými dekarboxylasami nebo jako produkty enzymově katalyzované aminace nebo transaminace aldehydů⁵.

Laktony

Laktony jsou cyklické estery, ve kterých karboxylová a alkoholová skupina patří té samé molekule. V sýrech zřejmě vznikají hydrolýzou hydroxymastných kyselin triglyceridů a následnou laktonizací. Mají nízký práh vnímání a příjemnou vůni po ovoci²⁸.

Volné mastné kyseliny

Mastné kyseliny jsou důležité sloučeniny chutnosti mnoha sýrů. Aromaticky aktivní jsou samotné, ale slouží i jako prekursory methylketonů, alkoholů, laktonů a esterů. Mastné kyseliny s kratším řetězcem vznikají oxidací ketonů, esterů a aldehydů. Důležité je, že hodnota pH sýru ovlivňuje koncentraci těkavých mastných kyselin. Pouze volné, protonované formy mastných kyselin jsou vonně aktivní a přispívají k chutnosti sýrů. Jsou to hlavně mastné kyseliny rozpuštěné v tukové fázi sýra²⁸.

Estery

Estery jsou běžné těkavé sloučeniny, nacházející se i v sýrech. Esterifikační reakce probíhá mezi mastnými kyselinami s krátkým a středně dlouhým řetězcem a primárními a sekundárními alkoholy odvozenými z fermentace laktosy nebo katabolismu aminokyselin²⁸.

Sírné sloučeniny

Těkavé sírné sloučeniny hrají důležitou roli v aroma sýrů. Pochází z degradace methioninu jako výsledek štěpení vazby mezi uhlíkem a sírou pomocí methionindemethiolasy. Tyto sloučeniny mají česnekovou vůni²⁸.

2.5 Senzorická analýza

Senzorickou analýzou rozumíme hodnocení potravin bezprostředně našimi smysly, včetně zpracování výsledků lidskou centrální nervovou soustavou. Musí být zajištěno objektivní, přesné a reprodukovatelné měření²⁹. Při senzorické analýze využíváme čich, zrak, chuť, hmat i sluch.

2.5.1 Základní rozdíl mezi senzorickou a fyzikální nebo chemickou analýzou

Fyzikální a chemickou analýzou se stanoví pouze vlastnosti potravin, které odpovídají vnějším podnětům při senzorické analýze. Kdežto senzorickou analýzou, při které zapojujeme smyslové receptory, stanovíme nikoli podněty, ale vjemy. Tyto jsou zpracovány v centrální nervové soustavě, takže výsledky nejsou srovnatelné s výsledky fyzikální nebo chemické analýzy²⁹.

Při organizaci senzorické analýzy je důležité zvládnout tyto metodické otázky:

- vytvořit optimální podmínky pro konkrétní úlohu;
- vytvořit systém přípravy a předkládání vzorků pro splnění zadaného úkolu;
- vybrat z dostupných osob vhodné hodnotitele a přiměřeně je vyškolit.

2.5.2 Hodnotitel (posuzovatel) při senzorické analýze

Posuzovateli se nazývají osoby, které se aktivně zúčastňují senzorické analýzy. Soubor těchto osob se nazývá komise. Vhodní posuzovatelé se musí vybírat pečlivě podle fyzických a psychických předpokladů pro senzorické hodnocení a musí být přiměřeně vyškoleni²⁹.

2.5.3 Použité laboratorní metody senzorické analýzy potravin

Pořadová zkouška

Pořadová zkouška patří mezi zkoušky rozlišovací, které zjišťují zda mezi podanými vzorky existuje v senzorické jakosti nebo v některém znaku rozdíl⁶. Posouzení pořadovou zkouškou je proto vhodné tehdy, jestliže je úkolem zjistit, zda existují rozdíly mezi větším počtem vzorků než dvěma. Hodnotitel obdrží řadu vzorků v náhodném pořadí a jeho úkolem je seřadit je podle intenzity zkoumaného znaku³⁰. Pořadovou zkoušku lze statisticky podpořit Freidmanovým testem.

Stupnicová metoda

Tyto metody jsou v praxi nejrozšířenější, protože jimi lze nejlépe popsat jakostní rozdíly mezi vzorky. Celková jakost nebo některý dílčí znak se posoudí podle určité stupnice⁶. V našem případě byla použita sedmibodová ordinální stupnice hedonického typu. Ordinální stupnice je taková, kde se intenzita, kvalita nebo příjemnost určité vlastnosti mění daným směrem, ale velikost intervalů není přesně dána³¹. Hedonická stupnice slouží k posouzení stupně příjemnosti, přijatelnosti nebo libosti⁶.

Hodnocení pomocí stupnice lze podpořit Kruskal-Wallisovým testem, který je vhodnou metodou ke srovnání senzorického znaku u více než dvou výrobků. Slouží k ověření zda, popř. mezi kterými vzorky je v určitém znaku rozdíl³².

2.6 Metoda stanovení aromatických látek

Stanovení aromatických látek přímou analýzou není většinou možné, aromatické látky se v sýrech vyskytují ve velmi nízkých koncentracích a neexistuje dostatečně citlivá metoda.

2.6.1 Mikroextrakce tuhou fází (SPME)

Je to velice jednoduchá a nenáročná technika zkoncentrování analytu. Tato technika nevyžaduje rozpouštědla ani komplikované aparatury. Je založená na sorpci analytu malým množstvím extrakční fáze na povrchu vlákna. Sorpce probíhá až do dosažení rovnovážného stavu. Množství analytu, který byl extrahován, závisí na extrakčních podmínkách, distribuční konstantě analytu, na typu a síle vrstvy polymeru pokrývajícího vlákno a na koncentraci

analytu obsaženého ve vzorku. Metoda se používá ve spojení s plynovou nebo kapalinovou chromatografií. Výhody této metody spočívají v její jednoduchosti, nepřítomnosti organického rozpouštědla, ale i v lehké manipulaci. Extrahované těkavé látky na absorbující vrstvě jsou přeneseny přímo do injektoru a stanoveny chromatografickou metodou. Metoda poskytuje rychlé a kvantitativní stanovení těkavých látek³³.

2.6.1.1 Výběr vhodného vlákna

Správný výběr SPME vlákna pro analýzu je velice důležitým krokem. Typ stacionární fáze, která křemenné vlákno pokrývá, má značný vliv na selektivitu extrakčního procesu. Pro volbu vhodného vlákna je důležité, jaké vlastnosti má stanovovaný analyt. Mezi faktory, které ovlivňují extrakční proces, patří molekulová hmotnost, tvar molekul, bod varu a tenze par analytu, polarita analytu a vlákna, přítomnost funkčních skupin v molekule, koncentrační rozsah pro stanovení analytu a typ detektoru. Volba vlákna především vychází z předpokládaného extrakčního mechanismu a z jeho polarit. Volbou vhodného polymeru a tloušťky se dosáhne maximálního výtěžku a významného zlepšení sorpční selektivity³⁴.

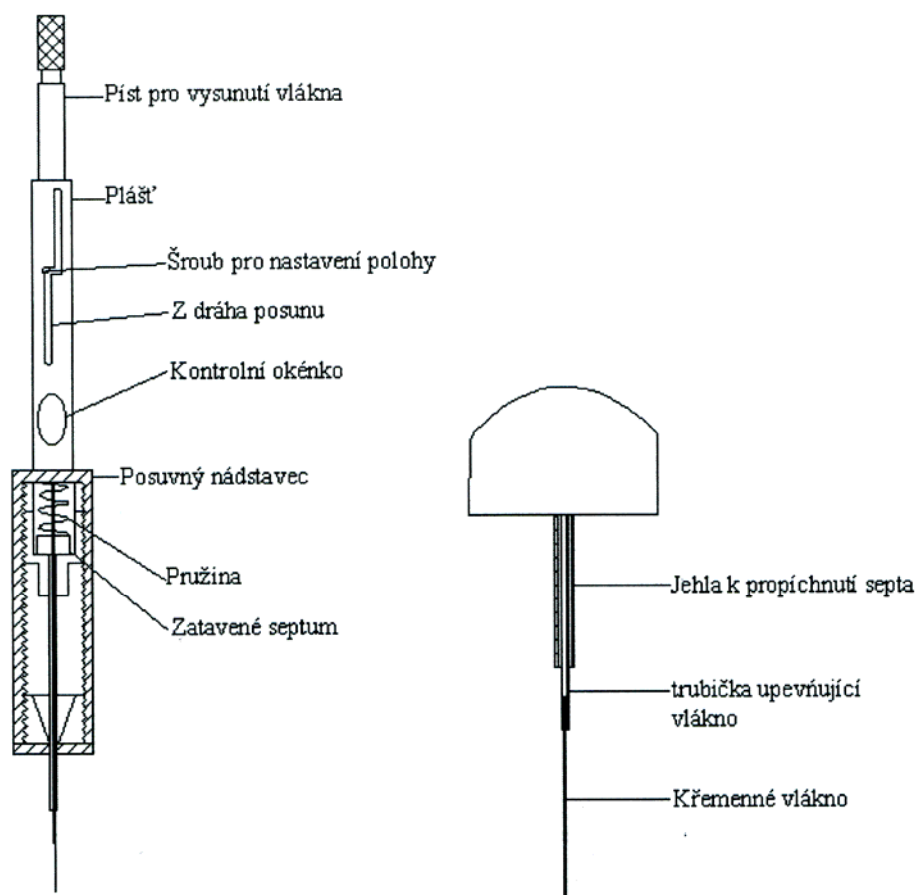
Pro přípravu vláken jsou používány stacionární fáze, které lze rozdělit do dvou skupin:

- homogenní čisté polymery – **absorbenty**: v současné nabídce jsou vlákna se dvěma typy homogenních polymerů: PDMS (polydimethylsiloxan) a PA (polyakrylát). Analyt se absorbuje dovnitř struktury polymeru. Tato vlákna mají obecně větší extrakční kapacitu.
- porézní částice suspendované v polymeru – **adsorbenty**: stacionární fáze obsahuje suspendované porézní částice v částečně zesíťované polymerní fázi. Tato vlákna mají nižší mechanickou stabilitu, ale vyšší selektivitu. Adsorbující vlákna obsahují buď DVB (divinylbenzen) a/nebo CARTM (carboxenTM)³⁵.

2.6.1.2 Sorpce a desorpce

Sorpce analytu může probíhat dvěma způsoby:

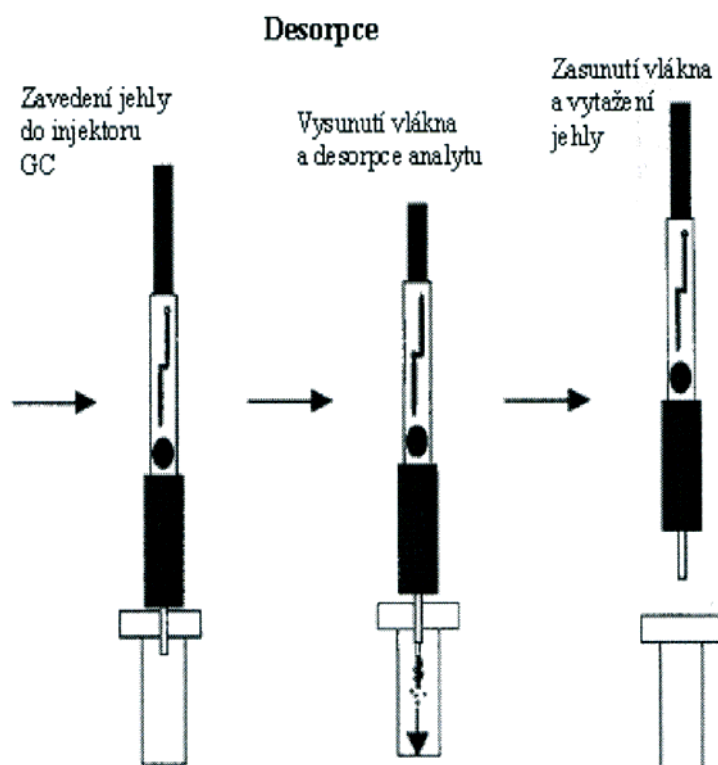
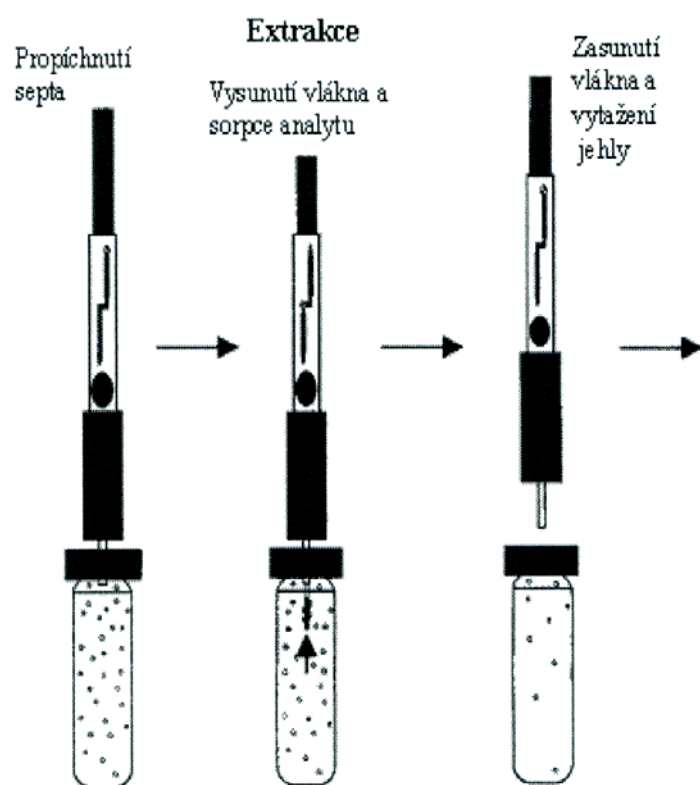
- DI–SPME (Direct Immersion-SPME) – pro extrakci netěkavých látek, vlákno se ponoří do roztoku analytu;
- HS-SPME (Headspace-SPME) – pro sorpci těkavých látek z prostoru nad vzorkem, tzv. headspace prostor



Obr. 2.1: Schéma SPME vlákna³⁶

Metoda SPME umožňuje při zachování konstantních podmínek vzorkování dosáhnout vysoké přesnosti a správnosti. Důležité je dodržet shodnost délky doby vzorkování, udržovat konstantní velikost vialek, velikost vzorku a stejnou hloubku ponoru, pokud používáme metodu vzorkování s ponorem. Metody s ponorem a sorpce z prostoru se liší v kinetice. Pro analyty, které se nacházejí převážně ve formě kapalné, je lepší metoda ponoření vlákna do vzorku, naopak pro analyty, které jsou přítomny v prostoru, je vhodná metoda sorpce z prostoru (headspace). Vysoká citlivost techniky headspace SPME umožňuje minimalizaci vzorku³⁷. Rovnováhy je v headspace prostoru dosaženo rychleji než při ponoření vlákna, protože analyt může difundovat k vláknu rychleji. Metoda headspace prodlužuje životnost SPME vláken.

V plynové chromatografii závisí desorpce analytu z SPME vlákna na bodu varu analytu, tloušťce polymeru a teplotě dávkovače³⁵.



Obr. 2.2: *Extrakce a desorpce analytu*³⁵

2.6.1.3 Optimalizace

Shodnost výsledků a spolehlivost detekce při nízkých koncentracích je ovlivněna celou řadou faktorů, jako polarita a tloušťka vrstvy polymeru, způsob vzorkování, hodnota pH, teplota vzorku, míchání apod. Nejdůležitější ale je dodržovat shodnou délku doby vzorkování a teplotu vzorku.

Polarita použitého vlákna a analytu má být podobná. Nepolární látky jsou mnohem účinněji extrahovány křemennými vlákny s nepolárním povrchem a naopak³⁸.

2.6.1.4 Vláknó CarboxenTM/Polydimethylsiloxane (CARTM/PDMS)

Carboxen je porézní syntetický materiál, jehož částice mají velikost 2 – 10 μm a jsou suspendovány v PDMS tak, aby byly rovnoměrně zastoupeny póry všech velikostí. Velikost pórů určuje, které analyty budou zachyceny na porézních částicích SPME vlákna. Uvádí se, že velikost by měla být 2x větší než molekula analytu, která má být extrahována. Několikanásobná vrstva CARTM částic v PDMS vázaná na křemenné vlákno výrazně zvyšuje sorpční kapacitu vlákna.

Vláknó CARTM/PDMS se chová jako adsorbent a je vhodné pro extrakci molekul s uhlíkovým řetězcem $\text{C}_2 - \text{C}_{12}$. Pro větší molekuly se toto vlákno nedoporučuje, jelikož je zde obtížná desorpce. Z toho důvodu je vlákno doporučováno právě pro extrakci těkavých nízkomolekulárních aromatických látek, protože se dobře adsorbují i desorbují^{39, 35}.

2.6.2 Plynová chromatografie

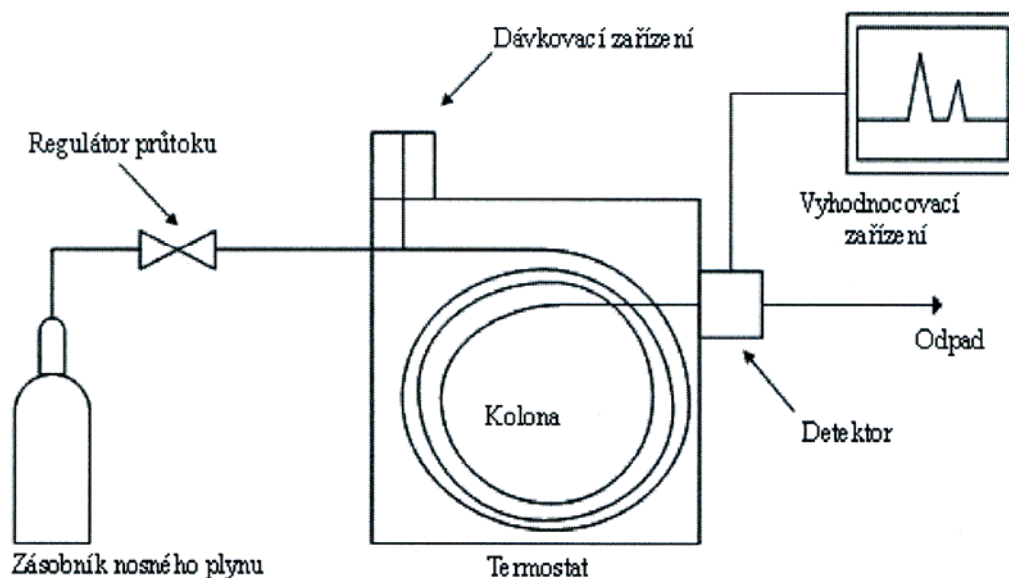
Chromatografie je separační metoda, při které se oddělují složky obsažené ve vzorku. Je to metoda kvalitativní a kvantitativní analýzy vzorku.

V plynové chromatografii se vzorek dávkuje do proudu nosného plynu (mobilní fáze), ten jej unáší kolonou dále. Vzorek se musí tedy ihned přeměnit na plyn. Principem separace je různá schopnost složek poutat se na stacionární fázi. Složky, které opouští kolonu, jsou indikovány detektorem, signál se vyhodnotí a z časového průběhu intenzity signálu určíme kvalitativní a kvantitativní zastoupení složek.

Plynovou chromatografií můžeme analyzovat látky, které mají dostatečný tlak syté páry, jsou tepelně stálé a mají relativní molekulovou hmotnost nižší než 1000 (podle ŠTULÍK a kol.⁴¹ je to až 1600). Můžou být stanoveny plyny, většina nedisociovatelných kapalin a pevných organických molekul a mnoho organokovových látek. Nestanovíme makromolekuly, organické a anorganické soli, jediné po chemické změně na stanovitelné deriváty⁴⁰.

Obecně lze v podmínkách plynové chromatografie analyzovat látky až do teploty varu $T_v \leq 800\text{ }^\circ\text{C}$, počtu uhlíkových atomů v molekule ≤ 100 a relativní molekulové hmotnosti $M_r \leq 1600$. Nejčastější aplikační rozsah se ale pohybuje ve spodní polovině uvedených maximálních rozsahů⁴¹.

2.6.2.1 Součásti plynového chromatografu



Obr. 2.3: Schéma plynového chromatografu³⁶

- Zdroj nosného plynu

Zdrojem je tlaková láhev s dusíkem, vodíkem, heliem nebo argonem. Plyn musí být inertní k separovaným složkám, musí pouze unášet tyto složky kolonou k detektoru. Musí být netoxický, neměl by být drahý a musí splňovat požadavky bezpečnosti práce. Závisí také na druhu kolony a detektoru.

- Čistící zařízení

Je nepostradatelnou součástí, zachycuje vlhkost a nečistoty v nosném plynu. Hlavní je odstraňování stop reaktivního kyslíku, který poškozuje stacionární fázi.

- Regulační systém

Reguluje stálý nebo programově se měnící průtok nosného plynu.

- Dávkovač

Slouží k zavedení vzorku do proudu nosného plynu. Musí být zajištěno odpaření vzorku v co nejkratším čase. Roztoky se dávkuje injekčními stříkačkami (0,1 – 10 µl). Nástřik plyných vzorků provádíme plynotěsnými injekčními stříkačkami nebo pomocí obtokových dávkovacích kohoutů různých konstrukcí. V naší práci bylo dávkování provedeno novou metodou mikroextrakce tuhou fází, která je popsána dále.

Známe různé techniky nástřikování:

- Nástřik **do kolony** (*on column*) je základní metodou u náplňových kolon. Dávkuje se 1 – 10 µl vzorku. Používá se i u kapilární kolony s větší světlostí (od průměru 0,25 mm). Horní část kolony je zahřívána na teplotu o 10 – 30 °C nižší, než je

teplota varu rozpouštědla. Vzorek musí být rychle nastříknut, vytvořit kapalným film a po 30 – 60 s se teplota kolony prudce zvýší a dojde k odpaření.

- **Pomocí děliče toku** (*split injection*) se nastříkuje u tenčích kapilárních kolon, které mají malou kapacitu, a proto se musí zejména u koncentrovaných vzorků jeho část s nosným plynem oddělit. Do kolony jde jen určitý objem vzorku (zpravidla 0,1 – 10 %), což bývá asi 0,1 – 2 µl.
- Metoda **bez děliče toku** (*splitless injection*) je vhodná pro celkem velké objemy (0,5 – 5 µl), které je nutno použít pro stopovou analýzu. Používá se totéž zařízení jako s dělením toku, ale odvod děliče je uzavřen. Vzorek se dává pomalu do odpařovací trubice a nechá se asi 60 s odpařovat. Poté se provede oplach septa. Dlouhá doba vstupu vzorku do kolony by vedla k rozšíření zón. Tomu zabráníme tak, že použijeme rozpouštědla s vyšší teplotou varu (např. oktan).
- **Koncentrátor na počátku kolony** je metoda zachycování vzorku ze vzduchu nebo vodného roztoku na adsorbent, jako je pórovitý polymer nebo grafitizované saze. Vzorek je pak termicky desorbován přímo do kolony. Účinnou moderní metodou je aplikace mikroextrakce tuhými fázemi, která byla použita v této práci ke stanovení aromatických látek.

- Kolona

V koloně je uložena stacionární fáze a dochází zde k separaci složek. Druhy kolon:

- **Náplňové kolony** jsou trubice naplněné sorbenty nebo nosiči pokrytými kapalnou fází. Jsou ocelové nebo skleněné, délky 1 – 3 m, průměr 2 - 3 mm. Náplně jsou např. silikagel nebo alumina (oxid hlinitý).
- **Kapilární kolony** mají jako nosič stacionární fáze svou vlastní stěnu. Jsou obvykle z taveného křemene, délky 15 – 60 m, průměr kolon 0,1 – 0,6 mm, tloušťka filmu stacionární fáze 0,25 – 5 µm.

- Detektor

Slouží k detekci látek v nosném plynu. Rozseparované složky opouští kolonu a prochází detektorem, který je napojen na zapisovač⁴². Detektor reaguje na přítomnost analytu a vysílá signál, jenž je zaznamenáván v závislosti na čase⁴⁰. Přítomnost složky je identifikována měřením určité vlastnosti plynu přicházejícího z kolony. Tato měřená vlastnost musí mít vztah k druhu a koncentraci složek vzorku⁴².

Nejpoužívanějšími jsou:

- tepelně-vodivostní detektor
- plamenový ionizační detektor
- detektor elektronového záchytu

V této práci byl použit **plamenový ionizační detektor** (*Flame Ionization Detektor* – FID):

Princip je založen na vedení elektřiny v plynech. Molekuly plynu se ionizují v kyslíkovodíkovém plameni a vedou ionizační proud mezi elektrodami. Přítomnost složky zvýší ionizaci a elektrický proud se zvýší. Detektor je velmi citlivý.

- Vyhodnocovací zařízení

Zpracovává signál z detektoru, zakresluje chromatogram a vyhodnocuje jej.

- Termostat

Zajišťuje dostatečně vysokou teplotu dávkovače, kolony a detektoru, aby byl vzorek udržen v plynném stavu⁴⁰.

2.6.2.2 Kvalitativní analýza

Vyjadřování výsledků ve všech kolonových chromatografických technikách je shodné. Po zplynění vzorku dochází v koloně k separaci složek, které jsou unášeny mobilní fází do detektoru. Po výstupu první látky z kolony detektor zaznamená její přítomnost a je zaznamenán eluční pík⁴³.

Pro identifikaci látek je důležité umístění maxima píku v chromatogramu. Zadržení látky v koloně tedy vyjadřujeme retenčními charakteristikami, které můžeme uvádět absolutně pomocí časů nebo objemů, nebo relativně srovnáním se standardy nebo inertem⁴⁰.

Molekula složky setrvává v koloně určitou dobu, tuto dobu nazýváme retenční čas t_R . Retenční čas dělíme ještě na čas, po který molekula setrvává v mobilní fázi – mrtvý retenční čas t_M a čas strávený ve stacionární fázi – redukovaný retenční čas t'_R .

$$t_R = t_M + t'_R \quad (2.1)$$

2.6.2.3 Kvantitativní analýza

Stejně jako u kvalitativní analýzy vychází i tato z chromatogramu. Plocha píku a jeho výška roste s obsahem složky ve vzorku. Lépe stanovitelná je výška píku, ale je také mnohem více ovlivnitelná malými změnami podmínek stanovení. Proto je lepší použít plochu píku. U moderních přístrojů se určuje plocha píku počítačovou integrací.

Vedle výšky a plochy píku se v kvantitativní analýze určuje správnost a přesnost výsledků. Přesnost vyjadřuje míru rozptýlení výsledků pozorování okolo střední hodnoty a udává se jako směrodatná odchylka.

Správnost kvantitativní analýzy je především ovlivněna přípravou vzorků, správnou funkcí přístroje, přesností zjišťování příslušných ploch a kvalitou zpracování dat, s čímž souvisí správná volba kalibrační techniky⁴³.

Pracovními technikami kvantitativní analýzy jsou:

- Metoda vnitřní normalizace;
- Metoda absolutní kalibrace;
- Metoda vnitřní standardizace;
- Metoda standardního přídatku⁴⁰.

3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Laboratorní vybavení

3.1.1 Chemikálie

- Acetaldehyd pro biochemické účely, MERCK Německo;
- Aceton p. a., LACHEMA Brno;
- Aceton dimethyl acetyl (2,2-dimethoxypropan) p. a., FLUKA Chemie Švýcarsko;
- Amoniak p. a., LACHEMA Brno;
- Benzaldehyd pro syntézu, MERCK Německo;
- Benzylalkohol pro syntézu, MERCK Německo;
- Butan-1-ol p. a., LACHEMA Brno;
- Butan-2,3-diol pro syntézu, MERCK Německo;
- Butan-2,3-dion p. a., FLUKA Chemie Švýcarsko;
- Butylacetát p. a., LACHEMA Brno;
- Dekanol pro syntézu, MERCK Německo;
- Biacetyl pro syntézu, MERCK Německo;
- Ethanol absolutní, SIGMA ALDRICH Německo;
- Ethylacetát p. a., LACHEMA Brno;
- Ethylbutyrát pro syntézu, MERCK Německo;
- Ethylkaprinát pro syntézu, MERCK Německo;
- Ethylkaprylát pro syntézu, MERCK Německo;
- Ethymethylketon p. a., LACHEMA Brno;
- Fenylacetaldehyd, SIGMA ALDRICH;
- Fenylethanol pro syntézu, MERCK Německo;
- Fenylethylacetát 99 %, ALDRICH CHEM. Německo;
- Furfural pro syntézu, MERCK Německo;
- n-Heptan p. a., LACHEMA Brno;
- Heptan-1-al 95 %, SIGMA ALDRICH Německo;
- Heptan-2-ol pro syntézu, MERCK Německo;
- Hexanal 98 %, SIGMA ALDRICH Německo;
- Hexan-1-ol pro syntézu, MERCK Německo;
- 3-Hydroxybutan-2-on (Acetoin) pro syntézu, MERCK Německo;
- Isobutanol p. a., LACHEMA Brno;
- Isomáselná kyselina pro syntézu, MERCK Německo;
- Isopropanol p. a., LACHEMA Brno;
- Isovaleraldehyd p. a., FLUKA Chemie Švýcarsko;
- Isovalerová (isopentanová) kyselina pro syntézu, MERCK Německo;
- Isoamylalkohol pro syntézu, MERCK Německo;
- Kapronaldehyd p. a., FLUKA Chemie Švýcarsko;
- Kapronová kyselina p. a., SERVA Feibiochemica Heidelberg Německo;
- Kaprylová kyselina p. a., SERVA Feibiochemica Heidelberg Německo;
- Máselná kyselina p. a., FLUKA Chemie Švýcarsko;
- Methylacetát, SIGMA ALDRICH Německo;
- Methanol p. a., LACHEMA Brno;

- Mléčná kyselina p. a., FLUKA Chemie Švýcarsko;
- N-amylalkohol p. a., LACHEMA Brno;
- N-methylhydroxylamin hydrochlorid purum, FLUKA Chemie Švýcarsko;
- Nonan-2-ol pro syntézu, MERCK Německo;
- Nonan-2-on pro syntézu, MERCK Německo;
- Octová kyselina p. a., PENTA Chrudim;
- Oktan-1-ol p. a., LACHEMA Brno;
- Okt-1-en-3-ol purum, FLUKA Chemie Švýcarsko;
- Pentan-2-ol pro syntézu, MERCK Německo;
- Pentan-2-on pro syntézu, MERCK Německo;
- Propanol pro syntézu, MERCK Německo;
- Propionaldehyd pro syntézu, MERCK Německo;
- Propionová kyselina pro syntézu, MERCK Německo;
- Propylacetát, BRUXELUS Belgie;
- Sek. butanol p. a., REONAL Maďarsko;
- Undekan-2-on pro syntézu, MERCK Německo;
- Terc. butanol p. a., LACHEMA Brno.

3.1.2 Plyny

- Dusík 5.5 SIAD v tlakové lahvi s redukčním ventilem s kovovou membránou;
- Vodík 5.5 SIAD v tlakové lahvi s redukčním ventilem;
- Vzduch SIAD v tlakové lahvi s redukčním ventilem pro kyslík.

3.1.3 Přístroje

- Plynový chromatograf TRACE GC (ThermoQuest Italia S. p. A., Itálie) s plamenově ionizačním detektorem, split/splitless injektorem a kapilární kolonou DB-WAX (30m × 0,32mm × 0,5μm);
- Počítač;
- Vodní lázeň WEB MLV PRUFGERATE, typ U2C;
- Analytické digitální váhy HELAGO, GR-202-EC, Itálie;
- Chladnička s mrazničkou AMICA, model AD 250;
- Sušárna MEMMERT.

3.1.4 Pracovní pomůcky

- SPME vlákno s polární stacionární fází CARTM/PDMS o tloušťce filmu 85μm, SUPELCO;
- Vialky (objem 4 ml) se šroubovacím uzávěrem a septem kaučuk – teflon;
- Mikropipety BIOHIT PROLINE (objem 0,5 - 1000μl), špičky;
- Elektronický časovač MARIENFELD SUPERIOR;
- Keramické misky pro senzorické hodnocení;
- Dřevěná podložka, nůž, kávové lžičky, Petriho misky, talíř, špachtle;
- Parafilm PECHINEY PLASTIC PACKAGING;
- Běžné laboratorní sklo, alobal, nůžky, uzavíratelné sáčky.

3.2 Analyzované vzorky

Tavené sýry vyrobila firma Madeta dne 8. 11. 2005. Byly vyrobeny ze směsi přírodních sýrů, zejména Eidamský blok a Moravský bochník, dále z másla, sušené syrovátky a tavicích solí. Teplota tavení byla 94 °C a celý proces tavení trval 10 min. Deklarovaný obsah sušiny je 38 %, z toho tuku v sušině 45 % a tuku v sýru 17 %. Sýry byly vysterilovány následujícím způsobem: 70 °C horká tavenina byla strojově balena do vysterilovaných, vnitřně lakovaných vaniček z taženého hliníku. Sýry byly baleny po 75 gramech. Po naplnění a uzavření vaniček teprve proběhla sterilizace, která trvala 20 minut a teplota dosáhla hodnoty 117 °C. Poté byly sýry během 30 minut zchlazeny na teplotu 25 °C. Byly odebrány dvě šarže výrobků. První šarže byla odebrána v 10 hodin dopoledne, druhá ve 13 hodin odpoledne.

Sterilované tavené sýry byly potom dále uchovávány v lednici při teplotě 6 ± 2 °C, při pokojové teplotě 23 ± 2 °C a v termostatu, kde byla teplota 40 ± 2 °C. Sýry byly analyzovány po 16 a 23 měsících. Před vlastní analýzou byly všechny vzorky skladovány v lednici při teplotě 6 ± 2 °C, po dobu nejvíce dvou dnů.

Tabulka 3.1: Přehled značení analyzovaných sterilovaných tavených sýrů

<i>Popis</i>	<i>Značení</i>
<i>1. řada, lednice, teplota 6 ± 2 °C</i>	SL I
<i>2. řada, lednice, teplota 6 ± 2 °C</i>	SL II
<i>1. řada, sklad, teplota 23 ± 2 °C</i>	SS I
<i>2. řada, sklad, teplota 23 ± 2 °C</i>	SS II
<i>1. řada, termostat, teplota 40 ± 2 °C</i>	ST I
<i>2. řada, termostat, teplota 40 ± 2 °C</i>	ST II

3.2.1 Příprava vzorků pro analýzu aromatických látek

Byly použity 4 ml vialky, do kterých byl navážen vždy 1 g stanovovaného sýra. Sýr musel být nanesen na dno vialky, aby nedošlo k pozdějšímu kontaktu s SPME vláknem. Poté byla vialka uzavřena vzduchotěsným teflon-kaučukovým septem.

3.3 Metoda extrakce aromatických sloučenin

Navážený vzorek ve vialce byl umístěn do vodní lázně vytemperované na 35 °C. Po dobu 30 minut docházelo k ustanovení rovnováhy mezi vzorkem a headspace prostorem. Potom bylo do headspace prostoru nad vzorkem vsunuto SPME vlákno. Během dalších 20 minut došlo k extrakci aromatických látek. Po ukončení extrakce bylo vlákno vsunuto do ocelového obalu a ihned přeneseno do injektoru plynového chromatografu. Zde došlo k desorpci aromatických látek. Před každou sérií měření bylo prováděno kondicionování SPME vlákna při teplotě injektoru 280 °C¹³.

Následují podmínky, při kterých byly prováděny všechny extrakce.

3.3.1 Podmínky SPME

Optimální podmínky SPME byly voleny stejně, jako v předchozí diplomové práci³⁶.

- Navážka vzorku: 1,0 g;
- Rovnovážná doba: 30 minut;
- Doba extrakce: 20 minut;
- Prodleva mezi extrakcí a desorpceí: 0 minut;
- Teplota desorpce: 250 °C;
- Doba desorpce: 5 minut.

3.4 Metoda stanovení aromatických látek

Použitou metodou pro stanovení aromatických látek byla plynová chromatografie. Kvalitativní a kvantitativní vyhodnocení bylo založeno na porovnání retenčních časů a ploch se standardy. Podmínky stanovení byly dodrženy stejné pro všechny vzorky a jsou uvedeny v následující kapitole.

3.4.1 Podmínky GC analýzy

Podmínky byly voleny stejně jako v předchozí diplomové práci³⁶.

- Plynový chromatograf TRACE GC (ThermoQuest Italia S. p. A., Itálie);
- Nosný plyn, dusík, průtok 0,9 ml.min⁻¹;
- Dávkovač splitless injection – ventil otevřen po pěti minutách;
- Teplota injektoru: 250 °C;
- Teplotní program: 40 °C, 1 minuta, vzestupný gradient 5 °C za minutu do 200 °C s výdrží 7 minut;
- Kolona: kapilární DB-WAX o rozměrech 30 m × 0,32 mm × 0,5 µm;
- Detektor: plamenově ionizační (FID), 220 °C, průtok vodíku 35 ml.min⁻¹, průtok vzduchu 350 ml.min⁻¹, make – up dusíku 30 ml.min⁻¹;
- Celková doba analýzy: 40 minut.

3.4.2 Stanovení aromatických látek pomocí standardů

Těkavé aromatické látky extrahované pomocí SPME byly identifikovány a kvantifikovány pomocí standardů. Jednotlivé standardy včetně použitých koncentrací byly voleny na základě předchozí práce, jejich seznam je v tabulce 4.1.

3.5 Výběr vhodné metody pro kvantifikaci

Pro kvantifikaci těkavých aromatických látek ze vzorku sýra byla zvolena metoda externího standardu neboli metoda absolutní kalibrace. Tato metoda srovnává odpovídající plochy píku analyzovaného vzorku a standardu o známých množstvích a za stejných podmínek.

Linearita metody byla ověřena v práci¹³, v koncentračním rozsahu 0,003 – 6 µg.g⁻¹ se hodnoty R² pohybovaly v rozsahu 0,9564 – 0,9952 u všech kvantifikovaných sloučenin. Měření bylo prováděno vždy čtyřikrát³⁶.

3.5.1 Výpočet koncentrace aromatických látek ze vzorků sýrů

Na základě známé koncentrace standardů byly vypočítány koncentrace aromatických látek ve vzorcích sýrů podle vztahu:

$$c = \frac{c_s \cdot A}{A_s} \quad (3.2)$$

kde c a A jsou koncentrace a plocha píku analyzované látky a c_s a A_s jsou koncentrace a plocha píku standardu³⁶.

3.6 Hodnocení organoleptických vlastností sýrů

Vzorky pro senzorické hodnocení byly vždy analyzovány současně s probíhající instrumentální analýzou. Vzorky byly tedy hodnoceny po 16 a 23 měsících. Byly hodnoceny vzorky uchovávané v lednici, při pokojové teplotě i z termostatu.

Vzorky pro senzorické hodnocení se rozdělí na kousky asi 2 cm velké, ty se rozdělí na kódem označené misky. Tyto misky jsou předloženy před hodnotitele. Protokol pro senzorické hodnocení sterilovaných tavených sýrů je uveden v příloze 8.2. Jako chuťový neutralizátor bylo použito bílé pečivo.

V době provádění senzorické analýzy ještě nebyla zařízena senzorická laboratoř, proto hodnocení probíhalo v laboratoři mikrobiologie, která byla k tomuto účelu nejvhodnější.

Hodnotitelé byli vybráni z řad zaměstnanců a studentů pátého ročníku, kteří již absolvovali seminář senzorické analýzy, byli tedy částečně proškoleni o způsobu hodnocení potravin. Celkem hodnotilo 16 posuzovatelů.

Hodnocení tvořila *pořadová zkouška*, kdy měli hodnotitelé za úkol seřadit vždy tři sýry jedné a pak druhé šarže podle tuhosti, tmavosti a vlastních preferencí a *hodnocení pomocí stupnice*, kdy bylo úkolem podle stupnice ohodnotit různé kategorie, jako chuť a vůně, konzistence, vzhled a barva, lesk nebo celkové hodnocení. Stupnice s podrobným popisem je v příloze 8.3.

3.7 Statistické zpracování výsledků

3.7.1 Instrumentální analýza

Výsledky byly vyhodnoceny pomocí programu Excel 2003.

Střední hodnota a rozptyl patří mezi základní statistické charakteristiky jakéhokoli typu rozdělení pravděpodobností. Tyto charakteristiky nemůžeme však experimentálně zjistit, můžeme je pouze na základě experimentálních měření odhadnout. Nejlepším odhadem střední hodnoty je aritmetický průměr:

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i \quad (3.3)$$

kde n je počet analýz, x_i (pro $i = 1, 2, 3 \dots n$) jsou jednotlivé naměřené hodnoty⁴⁴.

Směrodatná odchylka s je rozdíl hodnoty výsledku a průměrné hodnoty střední hodnoty:

$$s = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \quad (3.4)$$

kde n je počet analýz, x_i (pro $i = 1, 2, 3 \dots n$) jsou jednotlivé naměřené hodnoty a \bar{x} je aritmetický průměr.

Relativní směrodatná odchylka s_r (tzv. chyby metody) udává procentuální rozptyl od střední hodnoty:

$$s_r = \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100 \quad [\%] \quad (3.5)$$

kde s je směrodatná odchylka a \bar{x} je aritmetický průměr⁴⁵.

3.7.2 Senzorická analýza

Senzorická analýza byla vyhodnocena pomocí statistického programu STATVYD verze 2.0 beta.

Pořadová zkouška byla statisticky vyhodnocena pomocí Freidmannova testu. Hodnocení pomocí stupnice bylo podpořeno Kruskal-Wallisovým testem, který je vhodnou metodou ke srovnání senzorického znaku u více než dvou výrobků. Slouží k ověření zda, popř. mezi kterými vzorky, je v určitém znaku rozdíl³².

Veškeré statistické testování bylo provedeno na hladině statistické významnosti $\alpha = 0,05$ ³⁶.

4. VÝSLEDKY A DISKUSE

4.1 Stanovení aromaticky aktivních látek metodou SPME – GC

Aromaticky aktivní látky byly stanovovány po 16 a 23 měsících skladování. Vzorky byly uchovávány při různých teplotách a v různých prostředích, jejich seznam je v tabulce 3.1.

Ke stanovení byly použity výše popsané metody. Extrakce byla provedena metodou SPME (viz kapitola 2.6.1) a následně byly vyextrahované látky stanoveny plynovou chromatografií (viz kapitola 2.6.2).

Veškeré podmínky stanovení byly voleny stejně jako ve dvou předchozích diplomových pracích CHALUPOVÁ³⁶ a LAZÁRKOVÁ¹³.

4.1.1 Identifikace a kvantifikace aromaticky aktivních látek

Identifikace aromaticky aktivních látek byla provedena s pomocí retenčních časů známých standardů. Seznam použitých standardů je uveden v tabulce 4.1. Jsou zde uvedeny i příslušné retenční časy a známé koncentrace standardů.

Standardy byly identické jako v předchozí práci³⁶.

V sýrech bylo identifikováno celkem 37 aromatických látek, z toho 7 aldehydů, 7 ketonů, 6 kyselin, 12 alkoholů a 5 esterů.

Měření bylo prováděno vždy čtyřikrát z každého sýra. Relativní směrodatná odchylka naměřených koncentrací aromatických látek byla u většiny do 15 %. V několika případech byla i vyšší, a to hlavně u látek jako butan-2,3-diol, kyselina propionová, ethylmethylketon, fenylacetaldehyd, kyselina kaprylová nebo acetaldehyd. Odchylka ale nebyla vyšší než 30 %, pouze u butan-2,3-diolu dosáhla někdy až přes 50 %. Tato odchylka mohla být částečně způsobena kompetitivním efektem na vlákne.

Kvantifikace aromatických látek byla prováděna na základě dávkování známého množství standardů a vzorků za stejných podmínek a následném porovnání ploch jejich píků, podle vztahu 3.2.

Vypočítaná koncentrace je uvedena v $\mu\text{g.g}^{-1}$ sýra. Stanovená množství identifikovaných aromatických látek jsou uvedena v tabulkách 4.2 – 4.4. Příklady chromatogramů jsou uvedeny v přílohách 8.4 – 8.6.

Tabulka 4.1: *Přehled standardů použitých k identifikace aromaticky aktivních látek*

<i>Retenční čas (min)</i>	<i>Standard</i>	<i>Koncentrace ($\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)</i>
3,51	Amoniak	0,99
3,51	Heptan	9,52
3,54	Acetaldehyd	99,84
3,60	Kyselina kapronová	40,00
3,80	Butan-2,3-diol	49,75
4,18	Propionaldehyd	49,54
4,64	Aceton	99,54
4,68	Aceton dimethyl acetal	100,30
4,96	Methylacetát	5,02
5,79	Methanol	50,56
5,79	Ethylacetát	5,04
6,05	Terc. butanol	99,54
6,06	Ethylmethylketon	50,22
6,34	Isovaleraldehyd	4,94
6,36	Isopropanol	49,92
6,67	Ethanol	50,56
7,43	Propylacetát	5,04
7,48	Diacetyl	4,95
7,55	Pentan-2-on	5,00
8,61	Sek. butanol	100,44
8,88	Ethybutyrát	4,93
8,97	Propanol	49,60
9,68	Butylacetát	4,93
9,83	Hexanal	5,00
9,92	Kapronaldehyd	5,06
10,27	Isobutanol	100,80
11,09	Pentan-2-ol	100,48
11,87	Butan-1-ol	50,20
12,55	Heptan-1-al	5,07
12,59	Heptan-2-on	0,51
12,77	Heptanaldehyd	9,98
13,44	Isoamylalkohol	0,50
14,57	N-amylalkohol	21,06
15,91	3-hydroxybutan-2-on (Acetoin)	2,21
16,21	Heptan-2-ol	5,06
17,19	Hexan-1-ol	5,02
18,26	Nonan-2-on	0,51
19,18	Ethylkaprylát	5,06
19,53	Okt-1-en-3-ol	1,00

19,78	Kyselina octová	100,80
20,11	Furfural	5,10
21,27	Nonan-2-ol	4,92
21,75	Benzaldehyd	5,01
21,77	Kyselina propionová	99,20
22,21	Oktan-1-ol	1,00
22,60	Kyselina isomáselná	100,48
23,48	Undekan-2-on	4,95
23,99	Ethylkaprinát	4,99
24,04	Kyselina máselná	99,65
24,51	Fenylacetaldehyd	49,29
24,98	Kyselina isopentanová	100,44
26,85	Kyselina mléčná	5,08
26,91	Dekanol	4,15
28,16	Fenylethanol	10,10
28,50	Fenylethylacetát	4,92
29,53	Benzylalkohol	50,16
32,90	Kyselina kaprylová	49,14

Tabulka 4.2: Obsah aromaticky aktivních látek v tavených sýrech uchovávaných v lednici (SL I, SL II)

<i>Sloučenina</i>	<i>c (μg · g⁻¹)</i>			
	<i>16 měsíc</i>		<i>23 měsíc</i>	
	<i>SL I</i>	<i>SL II</i>	<i>SL I</i>	<i>SL II</i>
Acetaldehyd	9,57 ± 0,00	-	1,07 ± 0,10	2,14 ± 0,12
Butan-2,3-diol	0,81 ± 0,26	0,24 ± 0,13	50,19 ± 8,28	47,12 ± 6,55
Aceton	-	-	-	0,10 ± 0,00
Methylacetát	0,19 ± 0,05	0,28 ± 0,04	0,79 ± 0,05	0,89 ± 0,08
Methanol	-	-	2,78 ± 0,25	-
Ethylacetát	-	-	0,02 ± 0,00	-
Ethylmethylketon	0,09 ± 0,01	0,13 ± 0,03	0,33 ± 0,30	0,43 ± 0,05
Isovaleraldehyd	0,04 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,00
Isopropanol	0,48 ± 0,05	0,52 ± 0,02	0,52 ± 0,07	0,46 ± 0,03
Ethanol	2,41 ± 0,03	3,13 ± 0,28	12,72 ± 0,68	16,69 ± 0,99
Pentan-2-on	0,08 ± 0,01	0,11 ± 0,02	0,18 ± 0,03	0,19 ± 0,02
Sek. butanol	-	-	0,13 ± 0,00	-
Propanol	-	-	0,14 ± 0,00	0,15 ± 0,02
Kapronaldehyd	-	-	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
Heptan-2-on	-	-	0,15 ± 0,02	0,18 ± 0,02
Heptalaldehyd	0,40 ± 0,05	0,34 ± 0,06	-	-
Acetoin	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
Nonan-2-on	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,04 ± 0,00	0,04 ± 0,01
Octová kyselina	7,23 ± 2,46	3,92 ± 0,36	35,34 ± 3,00	38,58 ± 5,66
Furfural	0,01 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,09 ± 0,00	0,16 ± 0,01
Propionová kyselina	2,24 ± 0,00	-	9,20 ± 1,97	2,23 ± 0,16
Undekan-2-on	-	-	0,64 ± 0,03	0,88 ± 0,11
Ethylkaprinát	-	-	9,29 ± 1,14	9,00 ± 0,43
Máselná kyselina	1,29 ± 0,19	-	-	3,10 ± 0,77
Fenylacetaldehyd	-	-	0,18 ± 0,03	0,17 ± 0,01
Isopentanová kyselina	15,82 ± 1,66	16,76 ± 1,05	19,32 ± 0,29	35,74 ± 4,09
Mléčná kyselina	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,00	-	0,17 ± 0,05
Fenylethylacetát	-	-	0,04 ± 0,00	0,03 ± 0,00
Kaprylová kyselina	0,17 ± 0,04	-	0,54 ± 0,03	0,54 ± 0,13
<i>Celková koncentrace</i>	<i>40,86</i>	<i>25,51</i>	<i>143,72</i>	<i>159,03</i>

Tabulka 4.3: Obsah aromaticky aktivních látek v tavených sýrech uchovávaných v při pokojové teplotě (SS I, SS II)

<i>Sloučenina</i>	<i>c (μg · g⁻¹)</i>			
	<i>16 měsíc</i>		<i>23 měsíc</i>	
	<i>SS I</i>	<i>SS II</i>	<i>SS I</i>	<i>SS II</i>
Acetaldehyd			1,31 ± 0,14	0,47 ± 0,06
Butan-2,3-diol	1,65 ± 0,54	6,80 ± 3,44	21,03 ± 15,19	40,55 ± 9,30
Aceton	-	-	-	0,51 ± 0,11
Methylacetát	0,26 ± 0,04	0,34 ± 0,02	1,07 ± 0,09	1,17 ± 0,07
Methanol	-	-	3,28 ± 0,32	1,38 ± 0,00
Ethylmethylketon	0,09 ± 0,00	0,12 ± 0,03	0,49 ± 0,08	0,45 ± 0,08
Isovaleraldehyd	-	0,01 ± 0,00	0,04 ± 0,00	0,04 ± 0,01
Isopropanol	0,14 ± 0,01	0,20 ± 0,01	-	-
Ethanol	2,62 ± 0,28	3,59 ± 0,14	13,18 ± 0,86	15,58 ± 0,83
Pentan-2-on	0,07 ± 0,00	0,10 ± 0,01	0,30 ± 0,06	0,23 ± 0,03
Ethylbutyrát	-	-	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
Propanol	-	-	0,14 ± 0,01	0,16 ± 0,01
Kapronaldehyd	-	-	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
Isobutanol	0,09 ± 0,00	-	-	-
Heptan-2-on	-	-	0,25 ± 0,04	0,21 ± 0,02
Heptalaldehyd	0,28 ± 0,05	0,34 ± 0,02	0,03 ± 0,00	0,01 ± 0,00
Isoamylalkohol	-	-	0,10 ± 0,00	0,11 ± 0,00
Acetoin	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
Heptan-2-ol	-	-	0,01 ± 0,00	-
Nonan-2-on	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,05 ± 0,00	0,05 ± 0,00
Octová kyselina	3,82 ± 0,36	6,80 ± 2,97	34,99 ± 3,12	34,79 ± 3,78
Furfural	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,00	0,19 ± 0,02	0,26 ± 0,02
Propionová kyselina	-	-	5,14 ± 1,16	3,18 ± 0,52
Oktan-1-ol	-	-	0,01 ± 0,00	-
Undekan-2-on	-	-	1,06 ± 0,08	1,30 ± 0,09
Ethylkaprinát	2,05 ± 0,00	-	23,24 ± 4,78	15,93 ± 1,29
Máselná kyselina	0,92 ± 0,02	-	2,39 ± 0,13	-
Fenylacetaldehyd	-	-	0,15 ± 0,02	0,16 ± 0,03
Isopentanová kyselina	11,81 ± 1,79	25,03 ± 3,56	46,28 ± 2,26	64,63 ± 2,75
Mléčná kyselina	0,06 ± 0,00	0,03 ± 0,00	0,25 ± 0,01	0,09 ± 0,02
Fenylethylacetát	-	0,06 ± 0,00	0,13 ± 0,02	0,09 ± 0,01
Kaprylová kyselina	0,13 ± 0,01	0,19 ± 0,07	1,26 ± 0,23	1,08 ± 0,10
<i>Celková koncentrace</i>	23,93	43,76	156,37	182,45

Tabulka 4.4: Obsah aromaticky aktivních látek v tavených sýrech uchovávaných v termostatu (ST I, ST II)

Sloučenina	$c (\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$			
	16 měsíc		23 měsíc	
	ST I	ST II	ST I	ST II
Acetaldehyd	54,50 ± 0,00	13,07 ± 1,76	1,51 ± 0,34	2,00 ± 0,42
Butan-2,3-diol	1,05 ± 0,39	1,08 ± 0,36	5,35 ± 1,52	2,77 ± 0,75
Aceton	-	-	0,49 ± 0,00	0,62 ± 0,06
Methylacetát	0,53 ± 0,05	0,56 ± 0,07	1,85 ± 0,34	1,78 ± 0,11
Methanol	1,46 ± 0,11	-	21,37 ± 3,71	14,54 ± 0,74
Ethylacetát	-	-	0,02 ± 0,00	0,02 ± 0,00
Ethylmethylketon	0,26 ± 0,03	0,28 ± 0,04	0,92 ± 0,21	0,95 ± 0,14
Isovaleraldehyd	0,04 ± 0,00	0,03 ± 0,00	0,04 ± 0,00	0,07 ± 0,01
Isopropanol	0,35 ± 0,02	0,49 ± 0,04	11,28 ± 0,97	1,19 ± 0,17
Ethanol	2,26 ± 0,41	3,39 ± 0,52	9,30 ± 0,41	16,20 ± 2,73
Pentan-2-on	0,12 ± 0,01	0,13 ± 0,01	0,19 ± 0,01	0,35 ± 0,03
Ethylbutyrát	-	-	0,05 ± 0,01	0,06 ± 0,01
Propanol	0,13 ± 0,02	0,14 ± 0,03	0,26 ± 0,03	0,32 ± 0,02
Hexanal	-	-	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
Kapronaldehyd	-	-	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,00
Isobutanol	-	-	0,40 ± 0,01	-
Butan-1-ol	-	-	-	0,05 ± 0,02
Heptan-2-on	-	-	0,24 ± 0,01	0,30 ± 0,01
Heptalaldehyd	0,34 ± 0,05	0,34 ± 0,03	-	0,02 ± 0,01
Isoamylalkohol	-	-	0,55 ± 0,01	0,39 ± 0,02
Acetoin	-	-	-	-
Heptan-2-ol	-	-	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
Nonan-2-on	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00	0,05 ± 0,00	0,05 ± 0,00
Okt-1-en-3-ol	-	-	0,01 ± 0,00	0,01 ± 0,00
Octová kyselina	6,50 ± 0,70	7,42 ± 1,66	138,91 ± 6,07	63,59 ± 8,08
Furfural	0,07 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,32 ± 0,04	0,39 ± 0,02
Nonan-2-ol	-	-	0,04 ± 0,00	0,02 ± 0,00
Propionová kyselina	-	-	10,77 ± 0,33	4,33 ± 1,15
Undekan-2-on	-	0,26 ± 0,04	1,37 ± 0,19	1,68 ± 0,03
Ethylkaprinát	26,36 ± 1,49	35,96 ± 4,78	232,55 ± 34,73	819,74 ± 92,65
Máselná kyselina	2,25 ± 0,06	1,64 ± 0,18	-	1,09 ± 0,00
Fenylacetaldehyd	-	-	0,16 ± 0,04	0,07 ± 0,01
Isopentanová kyselina	82,52 ± 10,06	107,96 ± 37,71	111,15 ± 22,53	138,56 ± 6,29
Mléčná kyselina	0,38 ± 0,00	0,24 ± 0,03	0,26 ± 0,04	0,24 ± 0,04

Fenylethylacetát	0,16 ± 0,01	0,18 ± 0,03	4,76 ± 0,70	1,60 ± 0,21
Kaprylová kyselina	0,82 ± 0,11	0,80 ± 0,09	17,96 ± 2,79	8,77 ± 1,01
Celková koncentrace	179,93	174,08	1159,33	494,61

Tabulka 4.5: Obsah aromaticky aktivních látek v tavených sýrech, rozdělených do skupin

	<i>c (μg · g⁻¹)</i>							
	<i>1</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>7</i>	<i>12</i>	<i>16</i>	<i>23</i>	
SL I	<i>měsíc</i>	<i>měsíce</i>	<i>měsíce</i>	<i>měsíců</i>	<i>měsíců</i>	<i>měsíců</i>	<i>měsíců</i>	<i>průměr</i>
<i>aldehydy</i>	6,79	5,83	45,03	0,01	0,12	10,02	1,28	9,87
<i>ketony</i>	10,39	8,79	7,10	1,20	0,96	0,19	1,35	4,28
<i>kyseliny</i>	97,92	69,42	111,94	112,46	116,24	26,77	0,71	76,49
<i>alkoholy</i>	88,38	71,84	58,41	22,86	1,61	3,70	66,48	44,75
<i>estery</i>	0,03	0,03	0,03	13,48	23,40	0,19	10,14	6,757
SS I								
<i>aldehydy</i>		6,47	46,71	0,95	0,19	0,30	1,72	9,39
<i>ketony</i>		8,74	7,02	1,17	0,96	0,18	2,16	3,37
<i>kyseliny</i>		65,04	105,26	89,31	111,79	16,74	90,31	79,74
<i>alkoholy</i>		76,12	57,72	13,70	2,19	4,50	37,75	31,99
<i>estery</i>		0,02	0,02	8,36	22,66	2,31	24,45	9,64
ST I								
<i>aldehydy</i>		7,34	58,02	0,56	0,45	54,95	2,06	20,56
<i>ketony</i>		13,10	9,20	2,40	1,70	0,39	3,26	5,01
<i>kyseliny</i>		112,39	245,66	271,39	128,35	92,47	279,05	188,2
<i>alkoholy</i>		89,97	63,99	4,69	12,25	5,25	48,57	37,45
<i>estery</i>		0,03	0,12	40,53	90,22	27,05	239,23	66,20

4.1.2 Porovnání množství aromaticky aktivních látek v závislosti na teplotě skladování sterilovaných tavených sýrů

Aromaticky aktivní látky byly stanovovány ve sterilovaných tavených sýrech po 16 a 23 měsících skladování. Sýry byly skladovány při různých teplotách, jako je uvedeno v tabulce 3.1.

Pro názornost jsou aromatické látky rozděleny do čtyř následujících grafů 4.1 – 4.4. V grafu 4.1 jsou látky, jejichž obsah byl menší než 0,2 μg.g⁻¹, v grafu 4.2 jsou látky o obsahu 0,2 – 1 μg.g⁻¹, graf 4.3 ukazuje množství látek s koncentrací 1 – 25 μg.g⁻¹ a v grafu 4.4 jsou látky, u kterých bylo dosaženo množství více než 25 μg.g⁻¹. Tyto grafy znázorňují množství aromaticky aktivních látek stanovených v sýrech po 23 měsících skladování.

Po prostudování zmíněných grafů a příslušných tabulek zjistíme, že aromatické látky lze rozdělit, podle toho, jestli jejich obsah se vzrůstající teplotou stoupal, zůstával stejný nebo dokonce klesal. Poslední skupinu tvoří látky, které byly naměřeny pouze jednou nebo dvakrát.

Do skupiny AL, do které patří naprostá většina stanovených látek a jejichž obsah s teplotou stoupal, popř. se vytvořily až při vyšší teplotě, můžeme tedy zařadit aceton, ethylacetát, isovaleraldehyd, pentan-2-on, isopropanol, ethylbutyrát, propanol, hexanal, heptan-2-on,

heptan-2-ol, okt-1-en-3-ol, isoamylalkohol, furfural, nonan-2-ol, kyselinu mléčnou, methylacetát, ethylmethylketon, undekan-2-on, methanol, fenylethylacetát, kaprylovou kyselinu, octovou kyselinu, ethylkaprinát i isopentanovou kyselinu.

Látky, jejichž obsah byl téměř stejný při všech teplotách, jsou kapronaldehyd, nonan-2-on, acetaldehyd a ethanol.

Do skupiny látek, jejichž obsah se snižoval se zvyšující se teplotou, lze zařadit acetoin, fenylacetaldehyd, butan-2,3-diol a kyselina máselná.

Isobutanol je ze skupiny látek, které se objevily ojediněle.

4.1.3 Porovnání množství jednotlivých skupin aromaticky aktivních látek v závislosti na době skladování sterilovaných tavených sýrů

Závislost obsahu aromatických látek na době skladování je vynesena v grafech 4.5 až 4.9. Vzhledem k tomu, že sýry již byly hodnoceny od okamžiku výroby v daných intervalech v průběhu 23 měsíců, mohu nyní posoudit, jak se měnily obsahy aromatických látek po celou dobu. Svou prací navazují na diplomové práce LAZÁRKOVÉ¹³ a CHALUPOVÉ³⁶.

Obsahy aromatických látek byly posuzovány z hlediska jednotlivých skupin. Byla vždy posuzována jen první šarže sýrů, protože mezi první a druhou není statisticky významný rozdíl.

Co se týká aldehydů, není zde jednoznačný ani stoupající ani klesající trend. V grafu 4.5 vidíme, že nejvyšší obsah aldehydů byl naměřen po 4 měsících skladování. Potom ještě po 16 měsících, ale zde pouze v sýru, který byl uchováván v termostatu. Tyto velké výkyvy by mohly být způsobeny pouze malými odchylkami v podmínkách stanovení a hlavním důvodem může být lidský faktor, jelikož celkově analýzu prováděli tři lidé. V prvním měsíci byl posuzován pouze sýr z lednice. Lze také říci, že obsah aldehydů se zvyšoval se stoupající teplotou skladování.

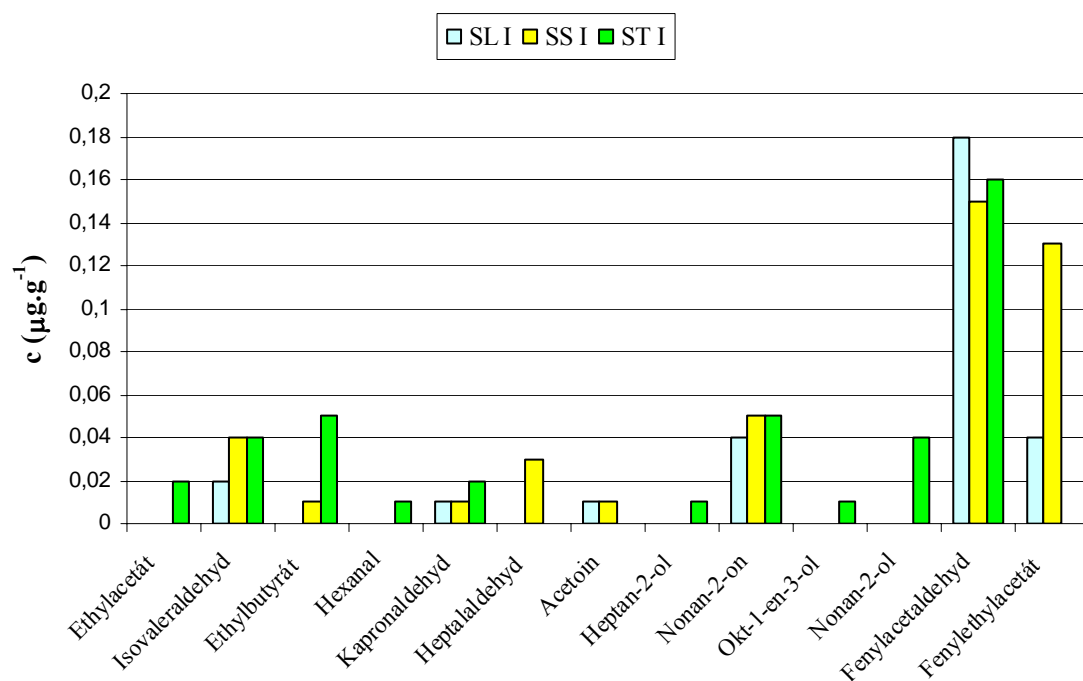
U ketonů (graf 4.6) je zřejmý klesající trend. Pouze po 23 měsících mírně obsah narostl. Takže obsah ketonů se skladovací dobou klesá, ovšem s teplotou mírně roste.

U kyselin (graf 4.7) opět není jednoznačný nárůst ani pokles. Obsah nejdříve stoupal, potom klesl a ve 23. měsíci znovu vzrostl. Ale co se týká teploty, opět se potvrdil nárůst obsahu AL se stoupající teplotou.

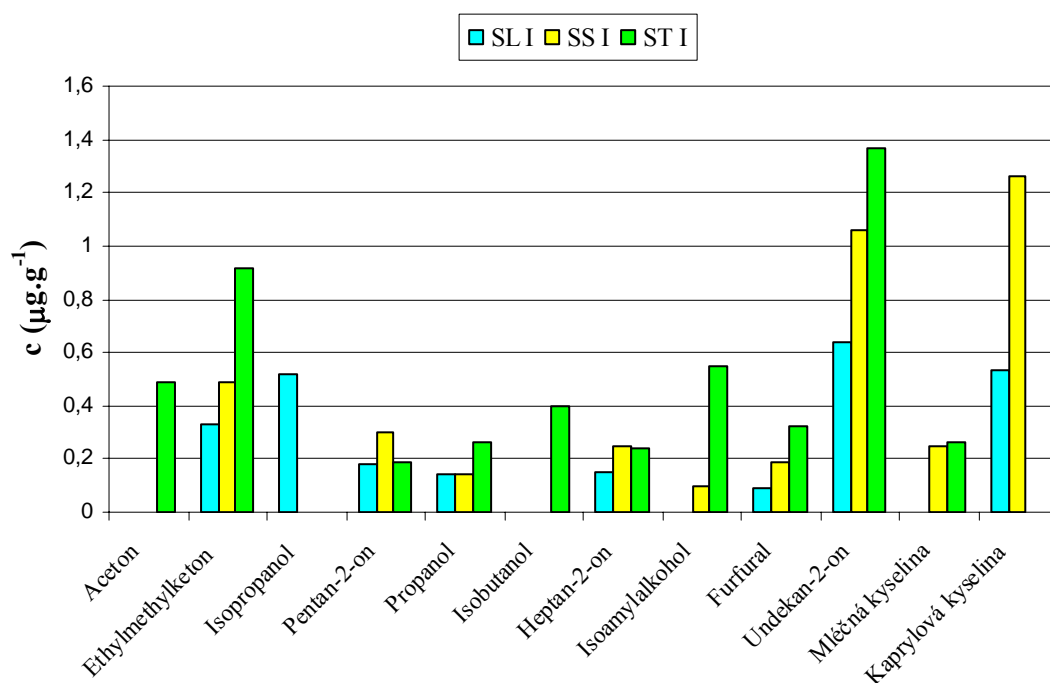
O alkoholech (graf 4.8) by se dalo říci, že jejich obsah klesá s dobou skladování. Ovšem po 23 měsících obsah mírně vzrostl. Přesto je tento obsah menší než po 3 nebo 4 měsících, takže trend je klesající. S teplotou jejich obsah stoupá, i když v 7. a 23. měsíci se toto nepotvrzuje.

Estery (graf 4.9) se ve významném množství objevily až po 7 měsících skladování. Po tom jejich obsah téměř plynule narůstal. S teplotou je to stejné jako u předchozích skupin, obsah narůstá se vzrůstem teploty.

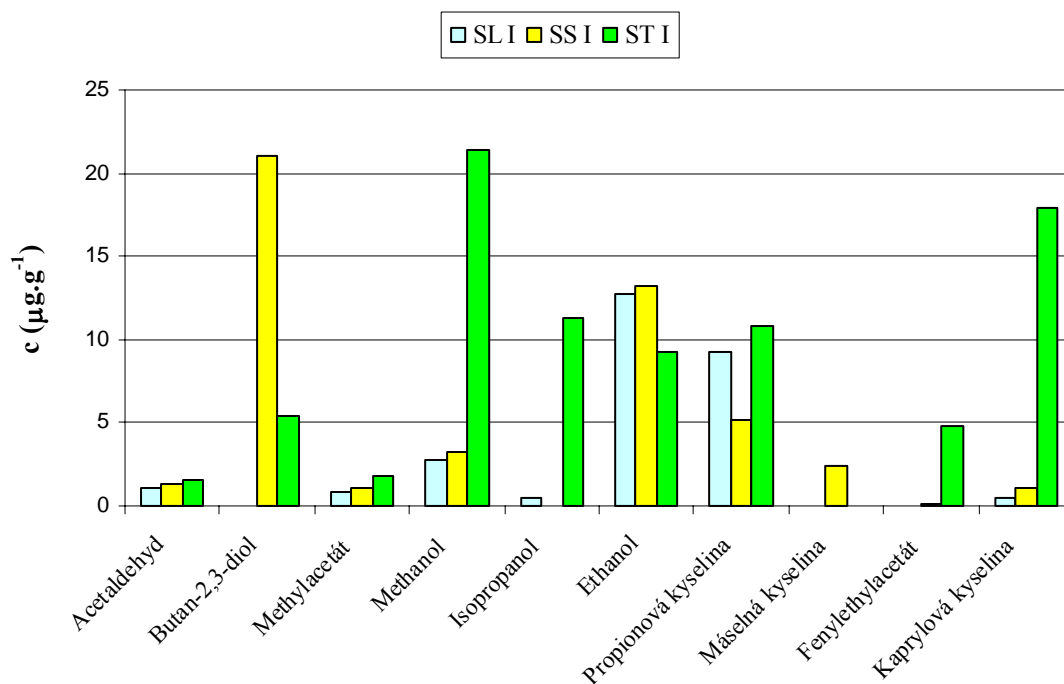
Porovnáme-li průměrný obsah těchto skupin (graf 4.10), nejvíce jsou v sýrech zastoupeny kyseliny, na druhém místě jsou alkoholy, potom estery, hlavně díky obsahu v sýru z termostatu, poté aldehydy a nakonec nejméně obsahují ketonů.



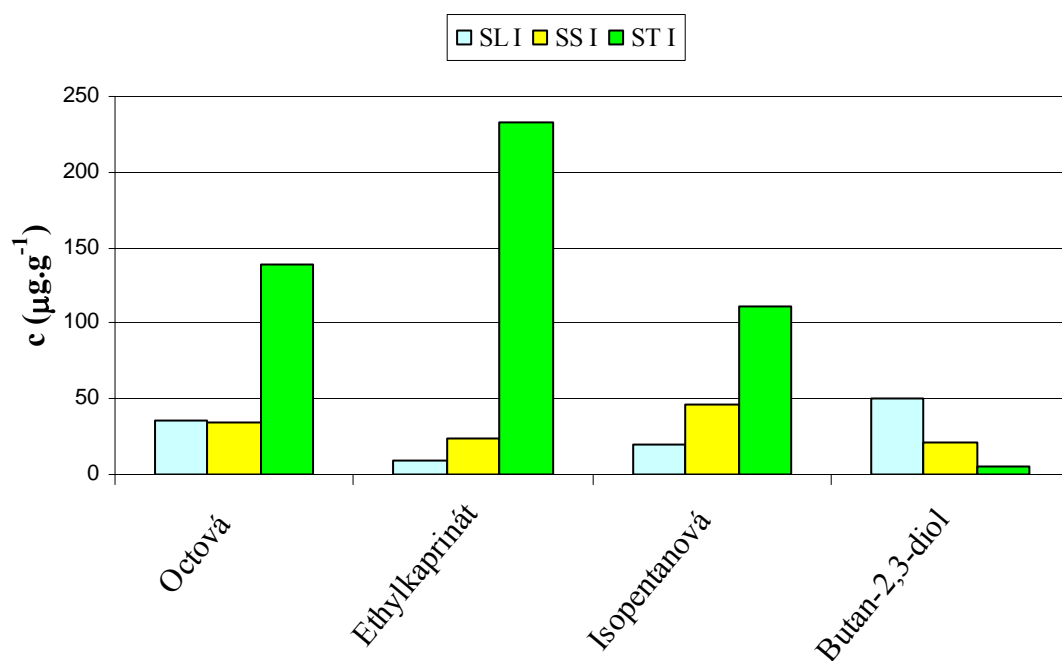
Graf 4.1: Obsah aromatických látek v tavených sýrech po 23 měsících skladování o koncentraci nižší než 0,2 µg.g⁻¹.



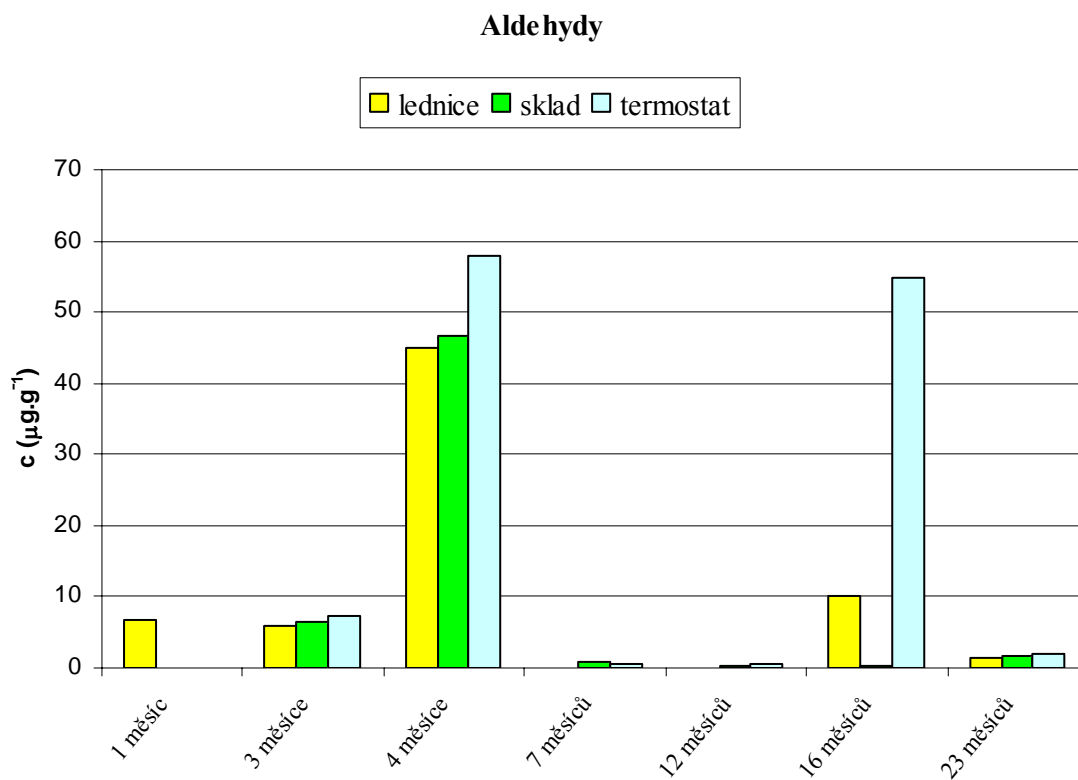
Graf 4.2: Obsah aromatických látek v tavených sýrech po 23 měsících skladování o koncentraci 0,2-1 µg.g⁻¹.



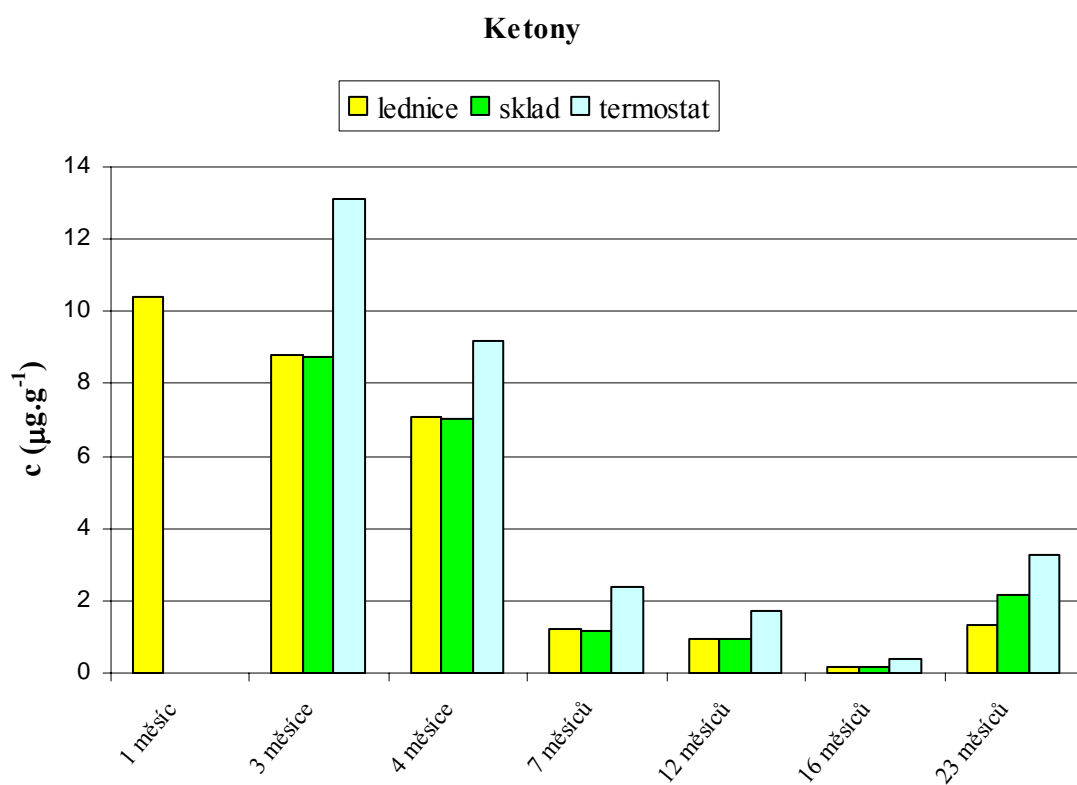
Graf 4.3: Obsah aromatických látek v tavených sýrech po 23 měsících skladování o koncentraci 1-25 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$.



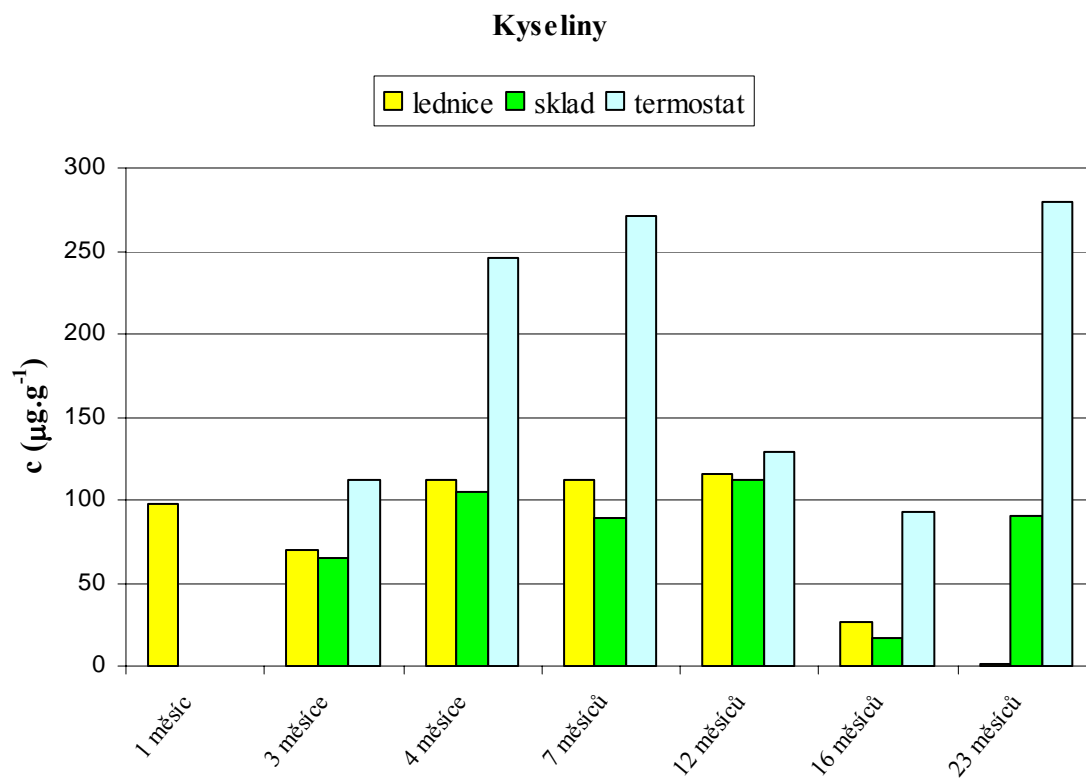
Graf 4.4: Obsah aromatických látek v tavených sýrech po 23 měsících skladování, které dosáhly koncentrace vyšší než 25 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$.



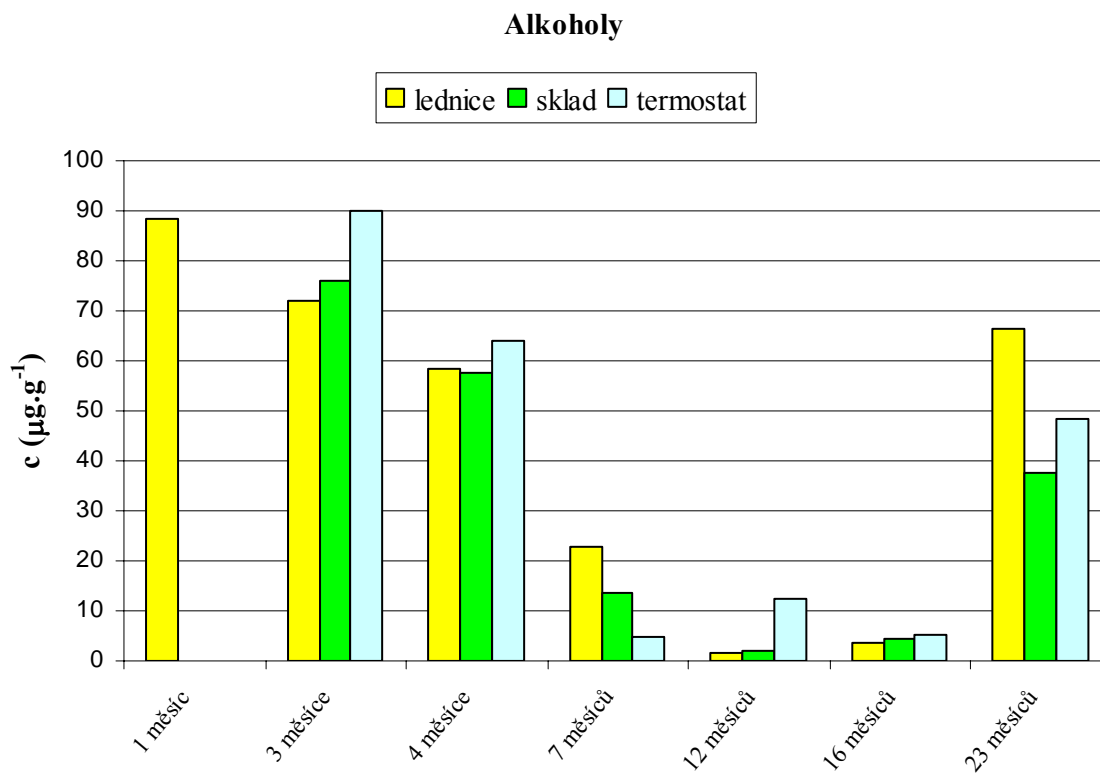
Graf 4.5: Závislost celkového množství aldehydů na době skladování.



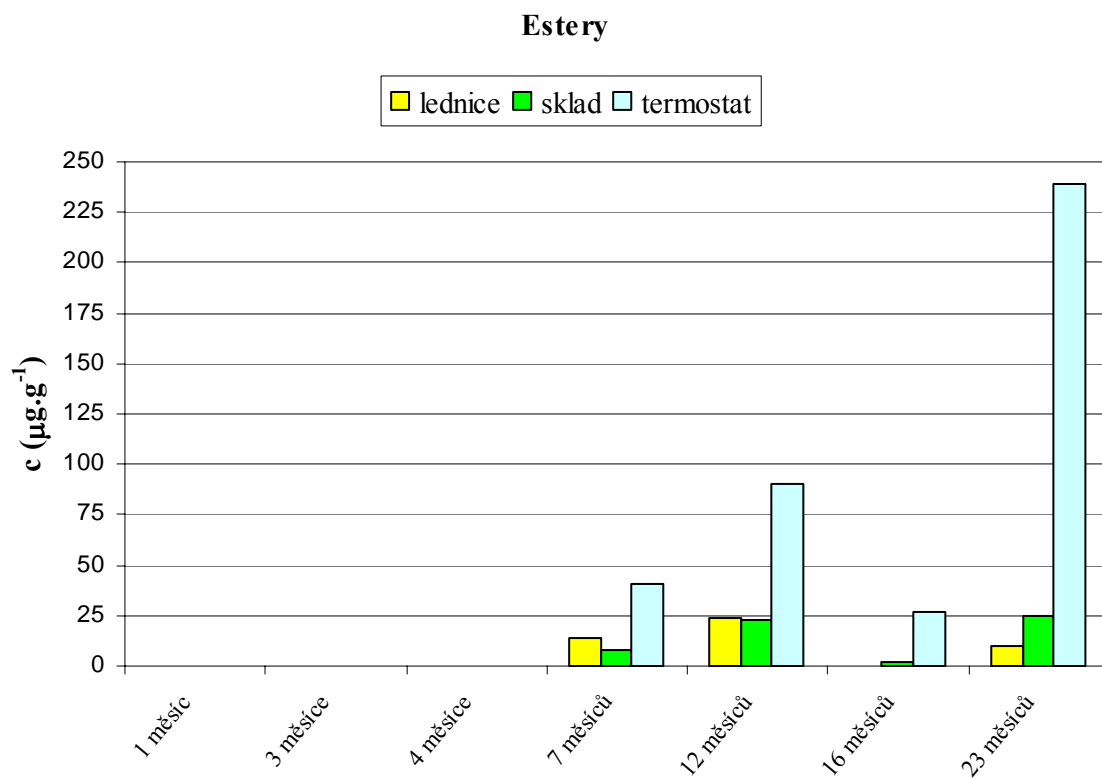
Graf 4.6: Závislost celkového množství ketonů na době skladování.



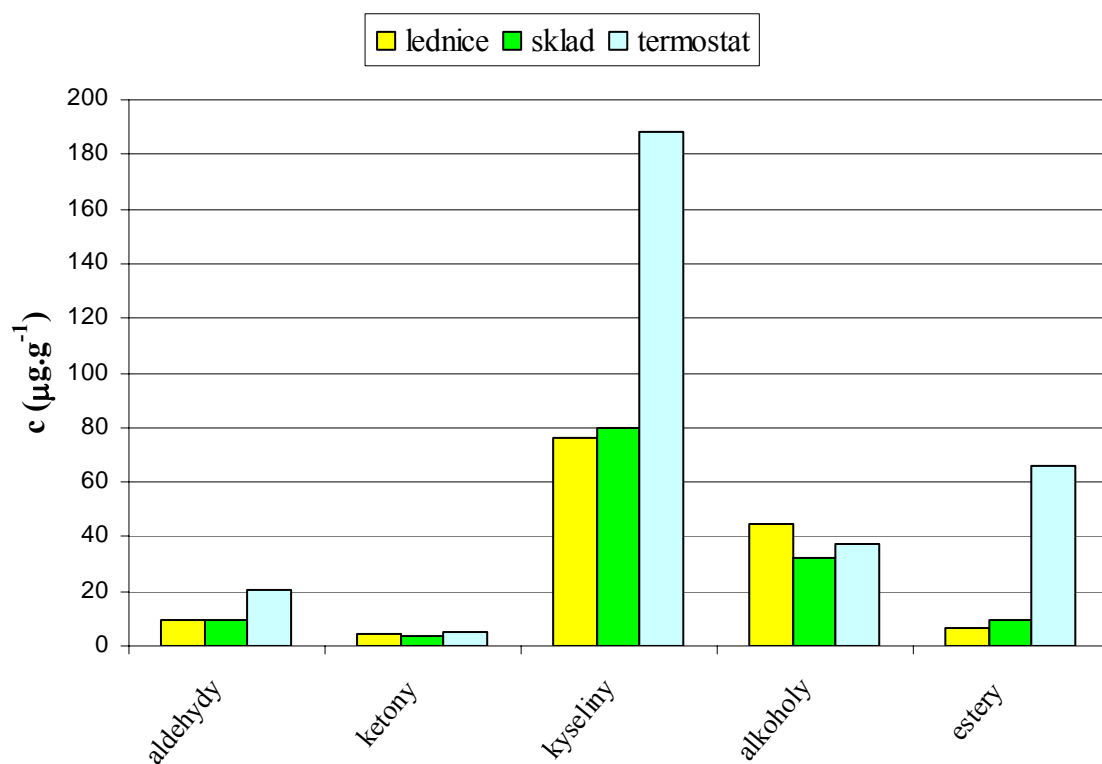
Graf 4.7: Závislost celkového množství kyselin na době skladování.



Graf 4.8: Závislost celkového množství alkoholů na době skladování.



Graf 4.9: Závislost celkového množství esterů na době skladování.



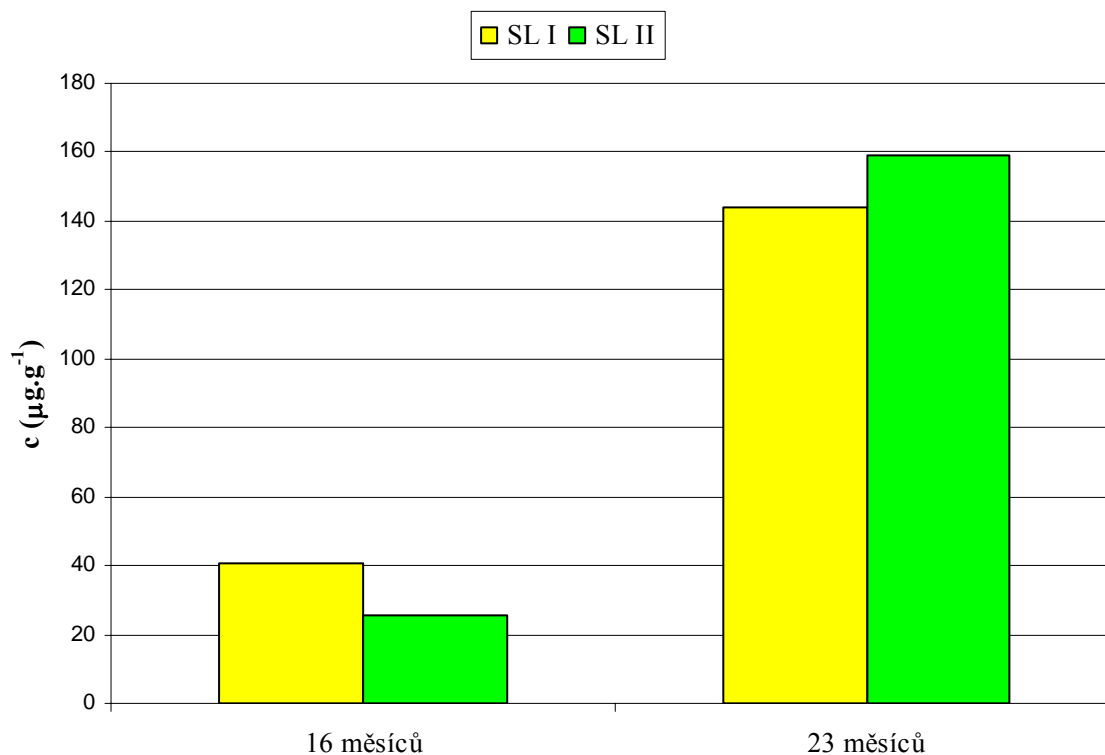
Graf 4.10: Závislost průměrného množství všech skupin aromatických látek na teplotě skladování po celých 23 měsících.

4.1.4 Porovnání celkového množství aromaticky aktivních látek v závislosti na době skladování

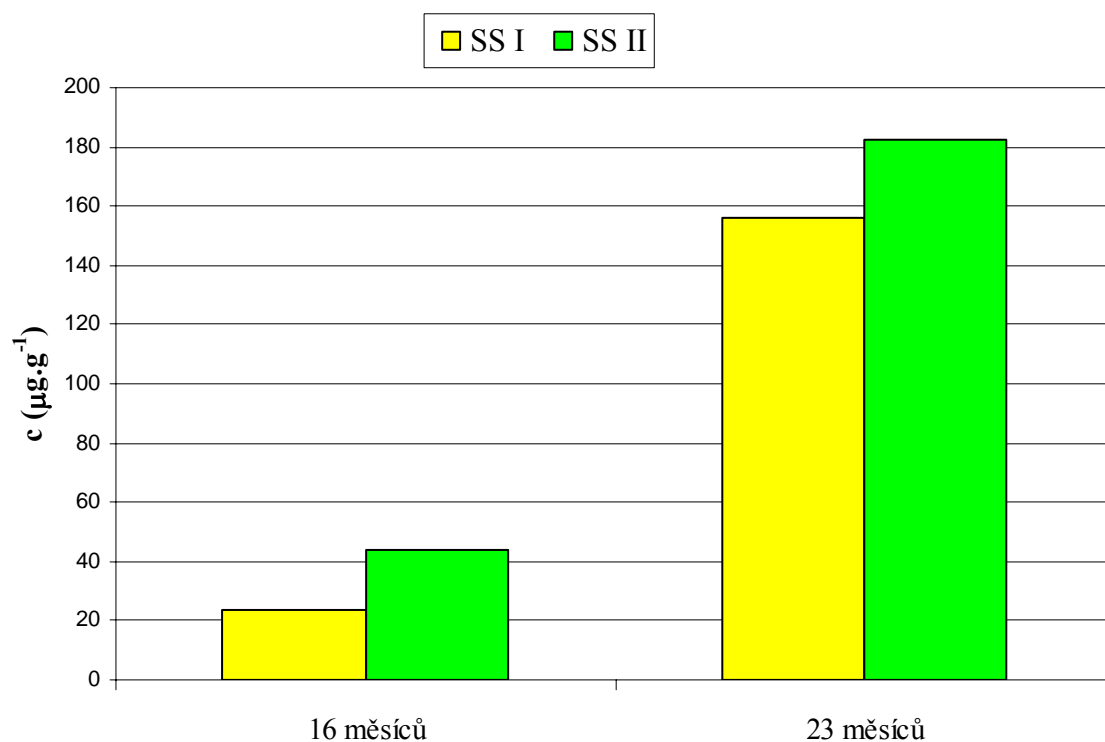
Byly stanovovány aromaticky aktivní látky po 16 a 23 měsících. Vliv doby skladování byl sledován u sýrů skladovaných při různých teplotách.

Výsledky jsou vyneseny v grafech 4.11 – 4.13. Na první pohled je zřejmé, že celkový obsah všech aromaticky aktivních látek se po 23 měsících prudce zvýšil při všech skladovacích teplotách, oproti sýrům po 16 měsících. Lze také vyčíst, že obsah látek se zvyšuje s rostoucí teplotou, což se potvrzuje i v předchozí kapitole.

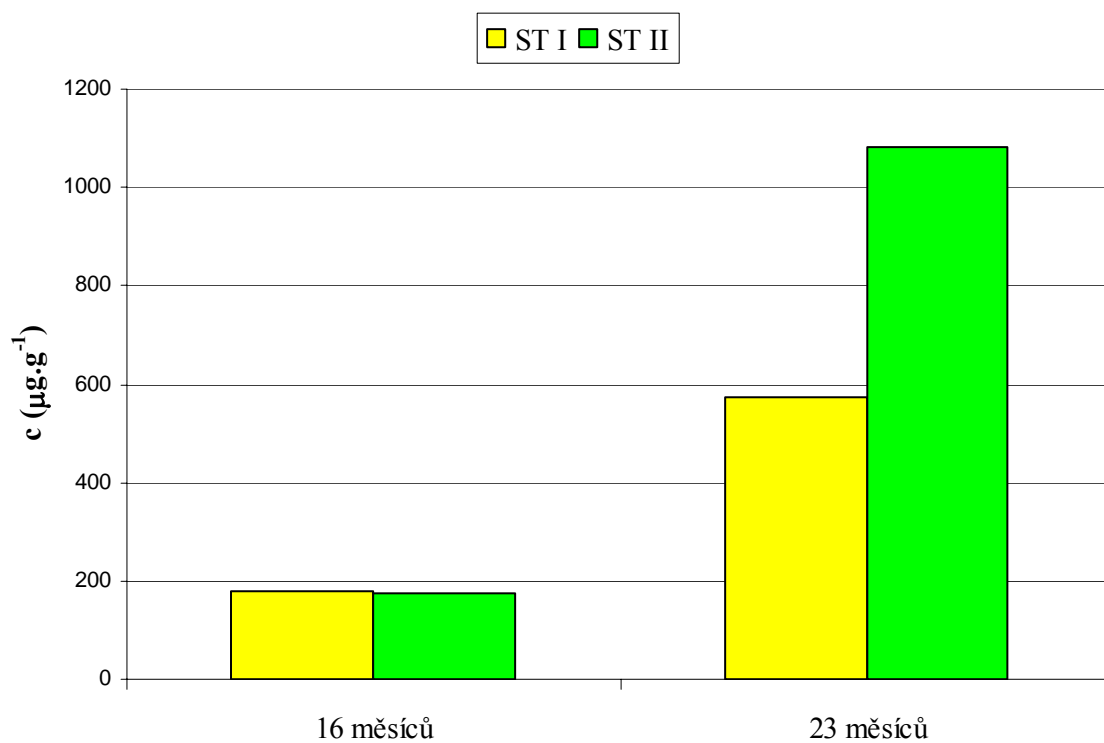
Jak se dalo předpokládat, je zde velké množství látek, které po 16 měsících přítomny nebyly, ale vytvořily se až po 23 měsících. To způsobilo prudký nárůst celkového obsahu aromaticky aktivních látek. Jsou to především aceton, methanol, ethylacetát, propanol (ten byl po 16 měsících pouze v sýrech z termostatu), hexanal, kapronaldehyd, isobutanol, heptan-2-on, isoamylalkohol, heptan-2-ol, undekan-2-on, fenylacetaldehyd a nonan-2-ol.



Graf 4.11: Celkové množství aromaticky aktivních látek v sýrech uchovávaných v lednici po 16 a 23 měsících.



Graf 4.12: Celkové množství aromaticky aktivních látek v sýrech uchovávaných při pokojové teplotě po 16 a 23 měsících.

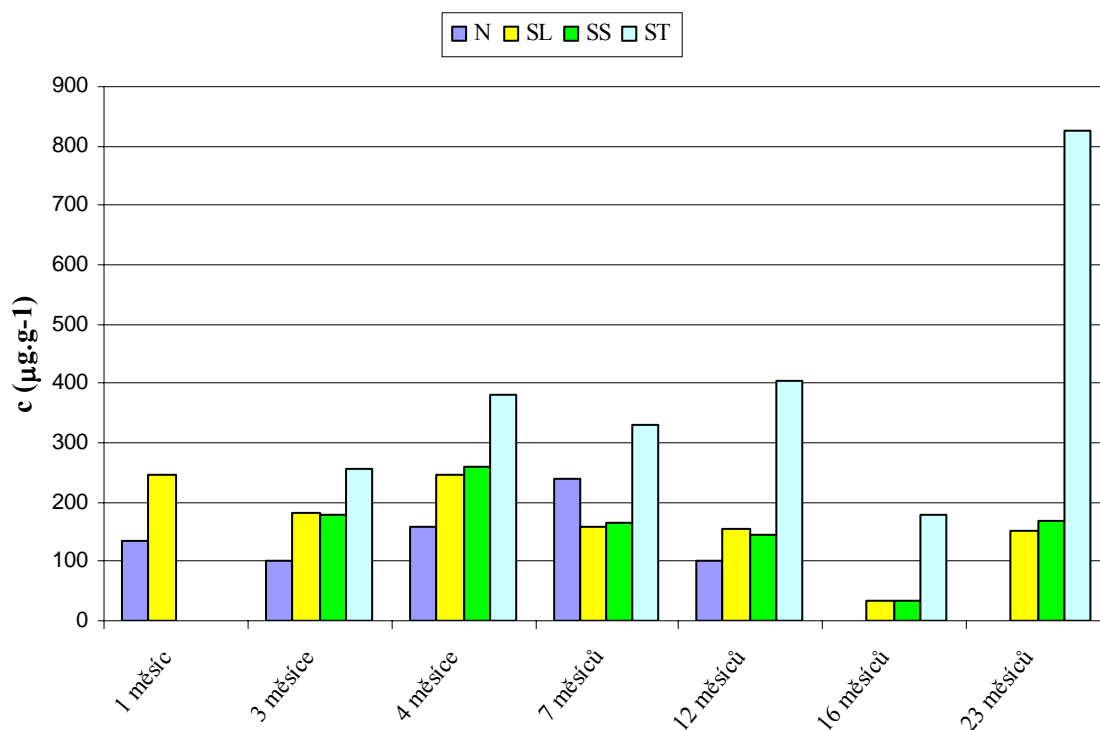


Graf 4.13: Celkové množství aromaticky aktivních látek v sýrech uchovávaných v termostatu po 16 a 23 měsících.

4.1.5 Zhodnocení dosavadních výsledků

V grafu 4.14 je vynesena závislost celkového obsahu aromatických látek na době a teplotě skladování. Tato závislost je posuzována od prvního měsíce a potom v určitých intervalech až do posledního stanovení po 23 měsících.

Po prostudování grafu lze říci, že trend celkového obsahu je spíše stoupající. I když po 16 měsících byl naměřen obsah výrazně nižší. Toto může být pouze chybou. Velkou roli zde jistě hraje lidský faktor, neboť celkově stanovení prováděli tři lidé. Dalším důvodem může být kompetitivní efekt na SPME vlákně, ke kterému může dojít. Co se týká teploty, opět se potvrzuje skutečnost, že s rostoucí skladovací teplotou se zvyšuje obsah většiny aromatických látek.



Graf 4.14: Vývoj celkového obsahu aromaticky aktivních látek v sýrech od 1. do 23. měsíce

4.2 Senzorické hodnocení sýrů

Senzorické hodnocení sýrů bylo prováděno vždy současně s analýzou SPME – GC. Sterilované tavené sýry byly analyzovány po 16 a 23 měsících. Použité metody byly pořadová zkouška a hodnocení pomocí stupnice. Protokol pro senzorické hodnocení tavených sýrů je uveden v příloze 8.2 a použitá stupnice je součástí přílohy 8.3.

V testu hodnocení pomocí stupnice byla použita sedmibodová ordinální stupnice hedonického typu. Číslem jedna byl hodnocen nejlepší sýr a číslem sedm pak nepříjemný sýr. Hodnotitelé porovnávali vzhled a barvu, lesk, konzistenci, chuť a vůni a nakonec celkově zhodnotili sýr. Pořadová zkouška obsahovala seřazení tří sterilovaných sýrů stejné šarže podle tuhosti, tmavosti a celkových preferencí.

U tavených sýrů byl v senzorické analýze hodnocen vliv teploty a doby skladování na senzorickou jakost. Tedy stejně jako u instrumentální analýzy. Výsledky jsou vyneseny vždy ve sloupcových grafech, kdy na ose y je modus, což je nejčastěji se vyskytující stupeň hodnocení (zvolilo nejvíce hodnotitelů). Pro zjištění statisticky významného rozdílu byl použit program STATVYD verze 2.0 beta.

4.2.1 Hodnocení pomocí stupnice

Tavené sýry byly uchovávány v lednici při teplotě 6°C (SL), při pokojové teplotě 23°C (SS) a v termostatu při teplotě 40°C (ST). Vliv této teploty na jakost sýrů byl stanovován po 16 a 23 měsících.

Z grafů 4.15 a 4.16 vyplývá, jak se dalo předpokládat, že se zvyšující se teplotou se výrazně zhoršuje i jakost tavených sýrů a to ve všech hodnocených kategoriích. Sterilované sýry uchovávané v lednici jsou hodnoceny nejlépe, nanejvýš stupněm tři, což odpovídá velmi dobré kvalitě. Co se týká sýrů uchovávaných při pokojové teplotě, byly hodnoceny stupněm dva až pět. Je tedy zřejmé, že tyto sýry mají mírně zhoršenou chutnost oproti sýrům z lednice, ale záleží spíše na vkusu posuzovatele. A konečně sýry uchovávané v termostatu byly hodnoceny nejhůře. Zpravidla byly označeny jako nevyhovující nebo nepříjemné.

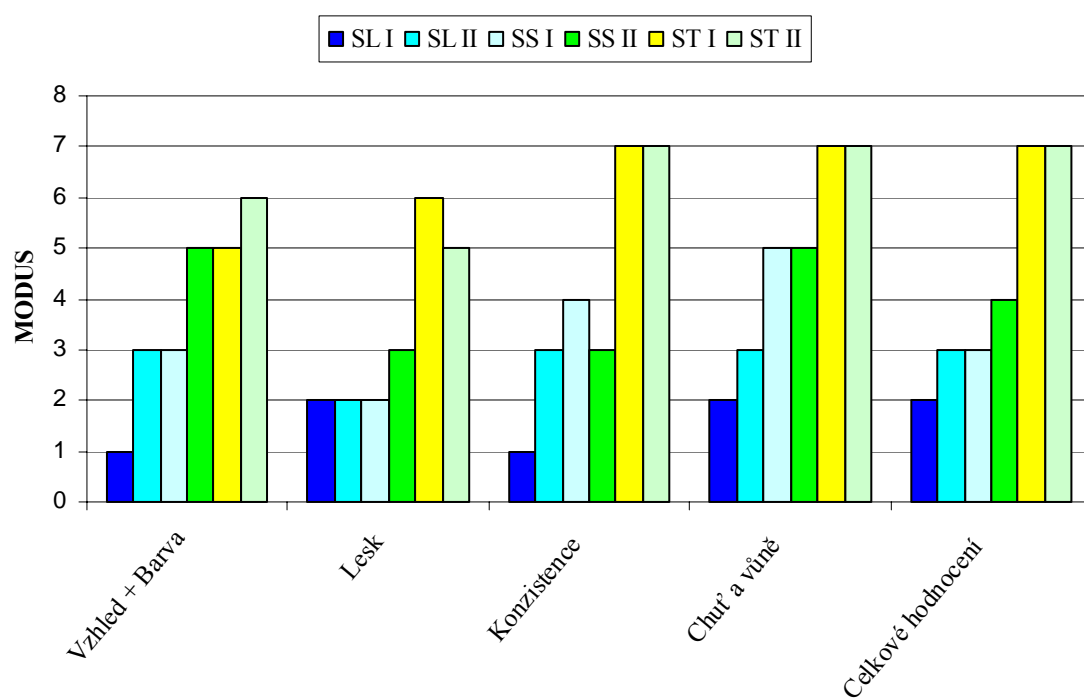
Porovnáme-li mezi sebou grafy 4.15 a 4.16, tedy z hlediska doby skladování, zjistíme, že k žádnému výraznému zhoršení chutnosti již nedošlo. Naopak v některých případech byly hodnoceny lépe sýry po 23 než po 16 měsících. Rozdíl však nebyl větší než o dva stupně, proto lze říci, že jde pouze o různé názory různých posuzovatelů, popř. to lze přisoudit malým zkušenostem některých posuzovatelů.

Tyto výsledky jsou podpořeny Kruskal-Wallisovým testem (program STATVYD). Mezi jednotlivými sýry byl shledán statisticky významný rozdíl, a to ve všech hodnocených kategoriích.

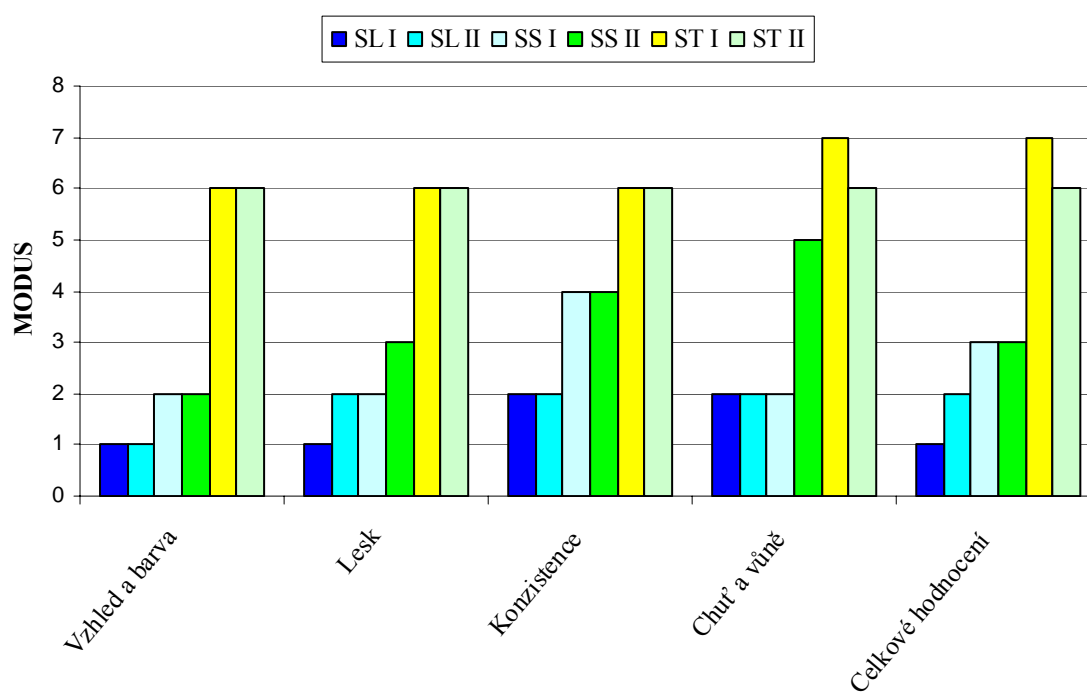
Z grafu 4.17 opět vyplývá, že mezi sýry po 16 a 23 měsících není statisticky významný rozdíl. Liší se maximálně o jeden stupeň. A vzrůstající tendence ohodnocení se vzrůstající teplotou opět dokazuje, že čím vyšší teplota skladování je, tím se zhoršuje i chutnost a kvalita sterilovaných tavených sýrů.

Můžeme tedy konstatovat, že sterilované tavené sýry si udrží dobrou jakost poměrně dlouhou dobu, nejméně 23 měsíců, ale pouze bude-li dodržena nízká skladovací teplota.

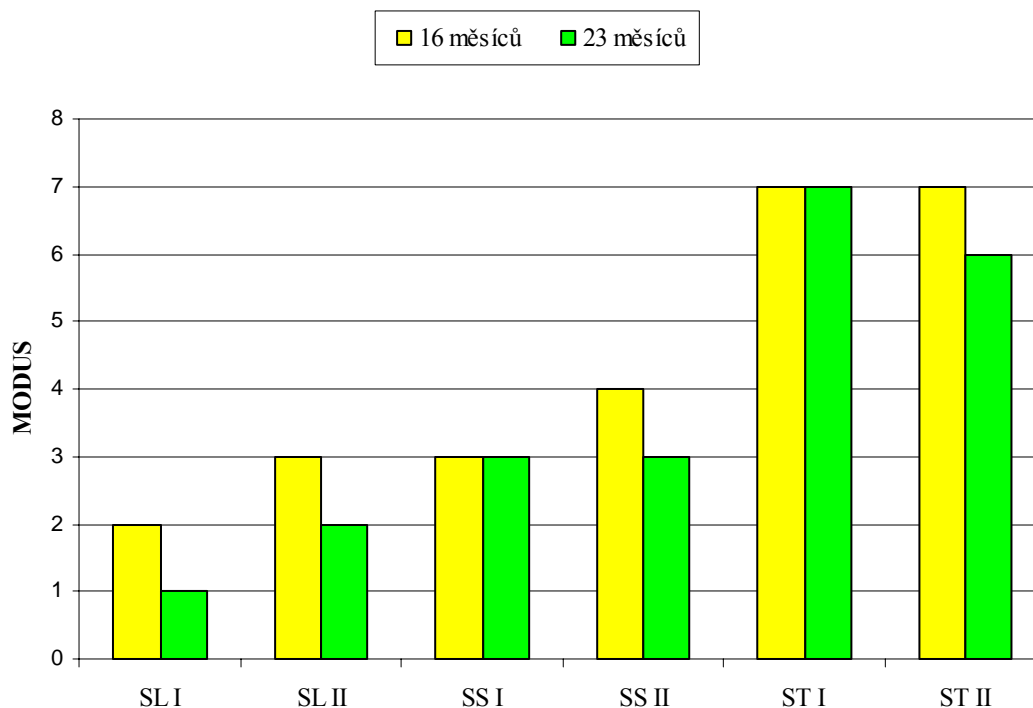
Je také zřejmé, že doba skladování neovlivňuje sýry tak výrazně, jako teplota. V porovnání s předchozími pracemi zjistíme, že sýry byly hodnoceny podobně po 3 měsících jako po 23 měsících (viz graf 4.19).



Graf 4.15: *Vliv teploty skladování na organoleptické vlastnosti sýrů po 16 měsících.*



Graf 4.16: *Vliv teploty skladování na organoleptické vlastnosti sýrů po 23 měsících.*



Graf 4.17: Celkové hodnocení sterilovaných tavených sýrů v závislosti na čase a na skladovací teplotě.

4.2.2 Pořadová zkouška

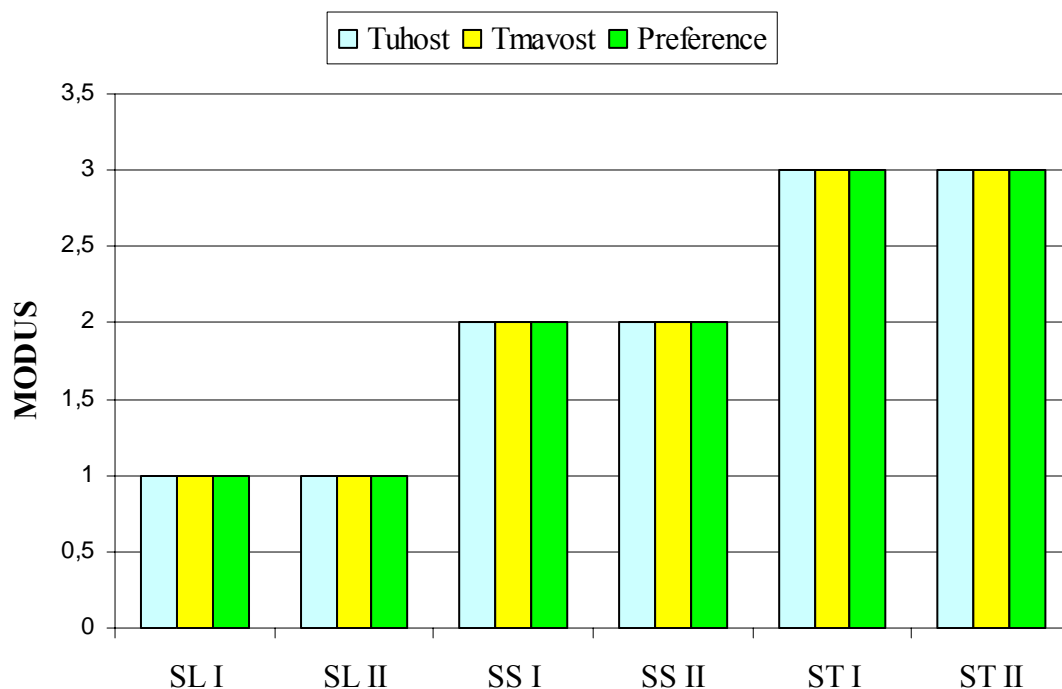
Graf 4.18 ukazuje, že výsledky pořadových zkoušek jsou naprosto jednoznačné. Poté, co měl posuzovatel za úkol seřadit sýry od nejlepšího po nejhorší, vždy podle určitého znaku, pokaždé z toho nejlépe vyšel sýr uchovávaný v lednici a nejhůře sýr z termostatu.

Prvním hlediskem byla tuhost daného sýru. Číslem jedna byl označen sýr nejméně tuhý, číslem tři potom nejtužší. Stejně tomu bylo i u tmavosti a konečně z hlediska posuzovatelových preferencí byl číslem jedna označen sýr nejlepší a číslem dva nejhorší.

Se stoupající teplotou se tedy kvalitativně zhoršuje tuhost taveného sýra, barva neboli tmavost sýra a celkově se zhoršuje přijatelnost a organoleptické vlastnosti daného sýra.

Výsledky pořadové zkoušky byly stejně jednoznačné po 16 i 23 měsících.

Výsledky jsou statisticky podpořeny u pořadové zkoušky Friedmanovým testem (program STATVYD). Byly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi hodnocenými sýry ve všech třech posuzovaných znacích.



Graf 4.18: *Hodnocení tavených sýrů podle jejich tuhosti, tmavosti a posuzovatelových preferencí.*

4.2.3 Zhodnocení dosavadních výsledků

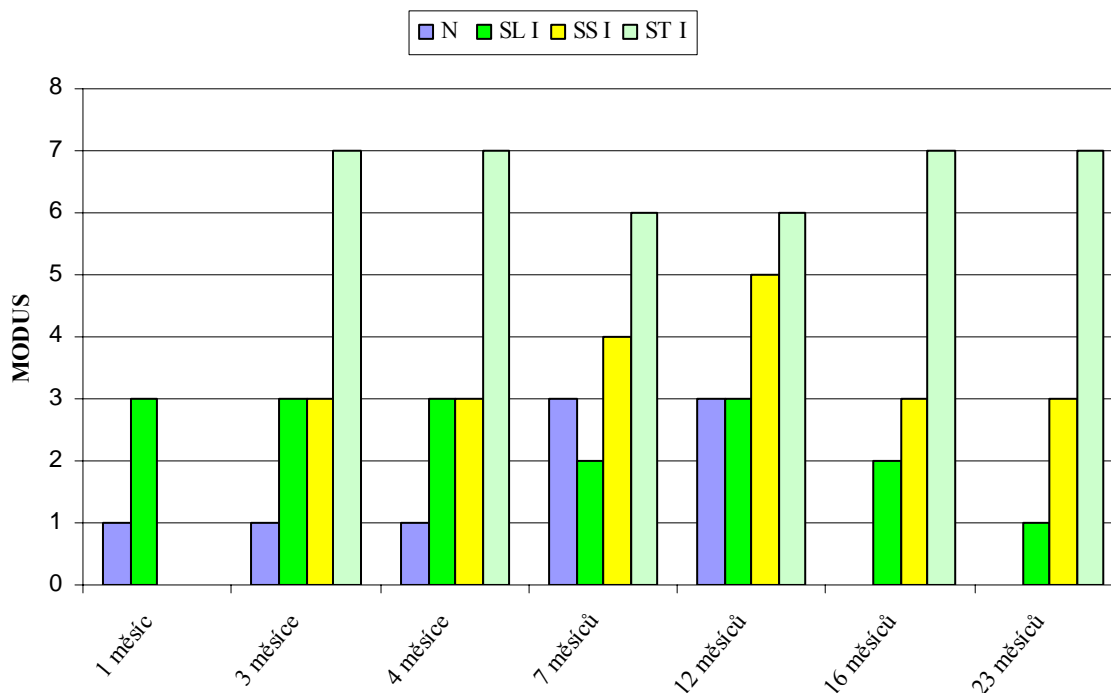
Vzhledem k tomu, že sýry již byly hodnoceny od okamžiku výroby v pravidelných intervalech v průběhu 23 měsíců, mohu nyní posoudit, jak se měnily jejich organoleptické vlastnosti. Svou prací navazuji na diplomové práce LAZÁRKOVÉ¹³ a CHALUPOVÉ³⁶.

Výsledky od 1. do 23. měsíce jsou vyneseny v grafu 4.19.

V prvním roce byl stanovován i nesterilovaný tavený sýr (N), který byl skladován v lednici. Tento sýr byl až do 4. měsíce hodnocen jako vynikající. 7. a 12. měsíc byl vyhodnocen jako velmi dobrý. Po 16 měsících již přesáhl dobu trvanlivosti, proto nebyl stanovován. Přesto je jasné, že tavené sýry si i po jednom roce skladování uchovávají poměrně dobré organoleptické vlastnosti a to i přesto, že nebyly ošetřeny sterilačním záhřevem pro prodloužení trvanlivosti.

Zajímavé je, že na senzorickou jakost a organoleptické vlastnosti sterilovaných sýrů nemá velký vliv doba, po kterou jsou skladovány. Vyplývá to z grafu 4.19. Sýry po třech měsících jsou hodnoceny v průměru stejně, jako sýry po 23 měsících.

Lze tedy konstatovat, že doba skladování má vliv na jakost nesterilovaného sýru vyšší, než na jakost sterilovaného sýru, ať už je uchováván při jakékoli teplotě.



Graf 4.19: Porovnání celkového hodnocení tavených sýrů od prvního měsíce skladování až dosud.

4.3 Porovnání výsledků SPME – GC a senzorické analýzy

Je jisté, že obsah aromatických látek v sýrech přímo souvisí s chutností daného sýra. Se zvyšující se skladovací teplotou se zvyšoval celkový obsah aromatických látek a z výsledků senzorické analýzy vyplývá, že se s touto rostoucí teplotou zhoršovala i chutnost.

Celkem bylo ve vzorcích identifikováno 37 různých druhů aromatických sloučenin, které lze rozdělit do pěti skupin. Bylo stanoveno 7 aldehydů, 7 ketonů, 6 kyselin, 12 alkoholů a 5 esterů.

Látky, které dosáhly vyšších koncentrací, by mohly nejvíce ovlivňovat senzorickou jakost tavených sýrů. Mezi ně budou patřit hlavně kyselina octová, kyselina isopentanová, ethylkaprinát, butan-2,3-diol, methanol, ethanol, kyselina propionová nebo kyselina kaprylová.

Kyseliny octová byla detekována ve všech sýrech v celkem významném množství, v sýrech z termostatu až téměř $140 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Kyselina octová může způsobovat kyselou až nepříjemnou chuť potravin. Její práh koncentrace vnímání je $0,11 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-15}$. Tato hodnota byla tedy mnohonásobně překročena.

Kyselina isopentanová byla také detekována ve velmi významných množstvích, s teplotou se obsah zvyšoval, její obsah nejednou přesáhl $100 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Jistě tedy hraje také velikou roli v senzorické jakosti. Kyselina propionová se používá jako konzervační činidlo, neměla by tedy ovlivňovat chutnost tavených sýrů. Kyselina máselná, která se také objevila, je nositelem žluklé chuti, stejně jako kyselina kaprylová⁵, která byla detekována hlavně při vyšších teplotách, a to až v desítkách $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$.

Alkoholy jsou také významnými vonnými a chuťovými látkami potravin⁵. Nejvíce sýry obsahovaly butan-2,3-diolu, ethanolu a methanolu. Všechny řádově v desítkách $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$.

Velice významný byl nárůst obsahu ethylkaprinátu. Jeho obsah v sýrech z termostatu byl až stovky $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. Jistě tedy také přispěl k negativnímu hodnocení tavených sýrů z termostatu.

Na jakost tavených sýrů má nezanedbatelný vliv i samotná sterilace. Vyplývá to z předchozích prací CHALUPOVÁ³⁶ a LAZÁRKOVÁ¹³. Nesterilované sýry byly hodnoceny lépe než sterilované.

Doba skladování má menší vliv na chuťnost sýrů než teplota, při které jsou tyto sýry skladovány. Sterilované tavené sýry si uchovají dobré senzorické vlastnosti poměrně dlouho, až 23 měsíců, to platí ovšem za dobrých skladovacích podmínek do 23 °C, nejlépe však 6 °C.

5. ZÁVĚR

Cílem této práce bylo identifikovat a kvantifikovat aromaticky aktivní látky v daných vzorcích tavených sýrů a zhodnotit vliv podmínek skladování na jejich chutnost.

Sterilované tavené sýry byly rozděleny na tři části, první část byla skladována při teplotě 6 ± 2 °C v lednici, druhá při pokojové teplotě 23 ± 2 °C a zbytek v termostatu při teplotě 40 ± 2 °C. Vzorky, které byly analyzovány, byly odebrány po 16 a 23 měsících. Posuzované sýry vyrobila firma Madeta, a. s., sterilovány byly při teplotě 117 °C po dobu 20 minut. Pro srovnání byly odebrány dvě šarže sýrů.

Aromaticky aktivní látky byly ze vzorků izolovány metodou SPME, neboli mikroextrakce tuhou fází. Poté byly stanoveny plynovou chromatografií. K identifikaci a kvantifikaci bylo využito určitých retenčních časů a ploch píků standardů. Celkem se podařilo identifikovat 37 aromaticky aktivních látek, z toho bylo 7 aldehydů, 7 ketonů, 6 kyselin, 12 alkoholů a 5 esterů.

Závěrem lze říci, že celkový obsah aromatických látek s rostoucí teplotou i dobou skladování roste. Co se týká jednotlivých látek, obsah některých s časem klesal, neměnil se, ale ve většině případů stoupal. Mezi výsledky první a druhé šarže nebyl zaznamenán statisticky významný rozdíl.

Současně probíhalo senzorické hodnocení sýrů. Sýry byly hodnoceny z hlediska jejich barvy a vzhledu, chuti, lesku, konzistence a nakonec byly celkově posouzeny. Byla použita pořadová zkouška a hodnocení pomocí stupnice. Hodnotitelé byli vybíráni z řad studentů pátých ročníků a zaměstnanců školy.

Vždy byly nejlépe hodnoceny sýry z lednice, a to ve všech posuzovaných kategoriích. Sýry uchovávané při pokojové teplotě byly hodnoceny o něco hůře a nejhorší hodnocení dostaly sýry z termostatu. Jakost sýrů se tedy s vyšší skladovací teplotou rapidně zhoršuje. Je tedy jasné, že vyšší teplota podporuje nežádoucí chemické změny v sýrech a jistě to souvisí s jejich chutností. Doba skladování nemá tak velký vliv na jakost jako teplota. Rozdíl mezi první a druhou šarží byl zanedbatelný.

Vzhledem k tomu, že sýry již byly hodnoceny od okamžiku výroby v pravidelných intervalech v průběhu 23 měsíců, mohlo být posouzeno, jak se měnily obsahy aromatických látek a organoleptické vlastnosti sýrů. Obsah aromatických látek se zvyšoval po celou dobu, pouze v 16. měsíci jejich obsah klesl, ale poté opět vzrostl. Organoleptické vlastnosti se zhoršily nejvíce při vysoké teplotě, k tomu došlo již třetí měsíc, poté už se vlastnosti zhoršovaly jen málo nebo vůbec.

Nakonec byly porovnány výsledky mezi stanovením pomocí SPME-GC a senzorickou analýzou. Bylo konstatováno, že teplota ovlivňuje obsah aromatických látek v sýrech a že změna obsahu aromatických látek má vliv na senzorickou jakost tavených sýrů.

Každopádně je jisté, že sterilované tavené sýry si dokážou uchovat svou dobrou jakost nejméně 23 měsíců, jedinou podmínkou je skladování při nízkých teplotách, nejlépe tedy kolem 6 °C.

Přínosem této práce bylo zjištění, že sterilované tavené sýry jsou potravinou, která má minimální trvanlivost nejméně 23 měsíců a najde tedy uplatnění v mnoha situacích. Jsou použitelné pro armádu i pro obvyčejného spotřebitele. Dále je tato práce důkazem, že vznik a výskyt aromatických látek přímo souvisí s chutností tavených sýrů.

6. POUŽITÉ LITERÁRNÍ ZDROJE

- [1] HUI, Y., H. *Handbook of food science, technology and engineering, Volume 4*. CRC Press: Taylor & Francis Group, 2006, pp 151-1 - 151-10, ISBN 0-8493-9849-5.
- [2] BUŇKA, F. *Vliv sterilačního záhřevu na jakost tavených sýrů určených pro krizové situace. Disertační práce*. Vyškov: Vysoká vojenská škola pozemního vojska, 2004, 109 s.
- [3] DOSTÁLOVÁ, J., ČURDA, L. *Význam tavených sýrů ve výživě*. Poslední úprava: 24. 1. 2008. Dostupné z < http://www.fzv.cz/web/fzv-poskytuje/tiskove-materialy/cesky_fenomen/syry_vyznam>
- [4] SALIX. *Mlékárna a tavná sýrů*. Poslední úprava: 25. 2. 2008. Dostupné z < <http://www.salix.vyroba.biz/>>
- [5] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin I*. 2. vyd., Tábor: Ossis, 2002, 344 s. ISBN 80-86659-00-3.
- [6] HÁLKOVÁ, J., RUMÍŠKOVÁ, M., RIEGLOVÁ, J. *Analýza potravin*. 2. vyd., Újezd u Brna: RNDr. Ivan Straka, vydavatel odborných publikací, 2001, 101 s. ISBN 80-86494-02-0.
- [7] KADLEC, P. a kol. *Technologie potravin II*. 1. vyd., Praha: VŠCHT, 2002, 236 s. ISBN 80-7080-510-2.
- [8] PETR, J., LOUDA, F. *Produkce potravinářských surovin*. 1. vyd., Praha: VŠCHT, 1998, 213 s. ISBN 80-7080-332-0.
- [9] KRAJČOVÁ, J. *Zbožiznalství*. 4. vyd., Praha: Vysoká škola hotelová v Praze 8, spol. s r. o., 2007, 258 s. ISBN 978-80-86578-68-2.
- [10] PÁNEK, J., POKORNÝ, J., DOSTÁLOVÁ, J. *Základy výživy a výživová politika*. 1. vyd., Praha: VŠCHT, 2002, 219 s. ISBN 80-7080-468-8.
- [11] FORMAN, L., STRMISKA, J. *Mlékárenství II*. 1. vyd., Praha: SNTL, 1984, 176 s.
- [12] Vyhláška č. 77/2003 Sb., kterou stanoví požadavky na mléko a mléčné výrobky, mražené krémy a jedlé tuky a oleje: Poslední úprava: 27. 11. 2006. Dostupné z : <<http://www.szpi.gov.cz/cze/legislativa/article.asp?id=56198&cat=2166&ts=1ec64>>
- [13] LAZÁRKOVÁ, Z. *Vliv sterilačního záhřevu na vybrané aromatické látky v tavených sýrech*. Diplomová práce. Brno: VUT FCH, 2006, 93 s.
- [14] GAJDŮŠEK, S. *Laktologie*. 1. vyd., Brno: MZLU, 2003, 84 s. ISBN 80-7157-657-3.
- [15] HOZA, I., KRAMÁŘOVÁ, D. *Potravinářská biochemie I*. 1. vyd., Zlín: Univerzita Tomáše Bati, 2005, 169 s. ISBN 978-80-7318-295-3.
- [16] MATYÁŠ, Z., VÍTOVEC, J. *Hygienu výroby a distribuce potravin*. 1. vyd., České Budějovice: Jihočeská univerzita, Fakulta zemědělská, 1999, 195 s. ISBN 80-7040-369-1.
- [17] FORMAN, L. a kol. *Mlékárenská technologie II*. 1. vyd., Praha: VŠCHT, 1994, 217 s. ISBN 80-7080-214-6.
- [18] CARIĆ, M., KALÁB, M. *Processed cheese products. Cheese: Chemistry, Physics and Mikrobiology. Volume 2. Major Cheese Groups.*, London and New York: Elsevier Applied Science, 1997.
- [19] BŘEZINA, P., KOMÁR, A., HRABĚ, J. *Technologie, zbožížnalství a hygiena potravin, část II*. Vyškov: Vysoká vojenská škola pozemního vojska, 2001, 91 s. ISBN 80-7231-079-8.
- [20] GAJDŮŠEK, S. *Mlékařství II*. 1. vyd., Brno: MZLU, 1998, 142 s.

- [21] ČEPIČKA, J. *Obecná potravinářská technologie*. 1. vyd., Praha: VŠCHT, 1995, 246 s. ISBN 80-7080-239-1.
- [22] KAPILA, P., F. et al. *Machinery for food processing*. Prague: Czech University of Agriculture, 2003, 206 s. ISBN 80-213-1107-X.
- [23] KYZLINK, V. *Teoretické základy konzervace potravin*. 1. vyd., Praha: SNTL, 1988, 512 s.
- [24] INGR, I. *Základy konzervace potravin*. Brno: MZLU, 1. vyd., 1999, 130 s. ISBN 80-7157-396-5.
- [25] FREIDMAN, M. *Food Browning and Its prevention: An Overview*. J. Agric. Food Chem. 44, 1996, 3, pp. 631 – 653.
- [26] SUNESEN, L. O., LUND, P., SØRENSEN, J., HØLMER, G. *Development of volatile compounds in processed cheese during storage*. Lebensm.-Wiss. u.-Technol., 2002, 35, pp. 128 – 134.
- [27] DIRINCK, P., DE WINNE, A. *Flavour characterisation and classification of cheeses by chromatographic-mass spectrometric profilig*. J. Chromatogr. A. 1999, 847, pp. 203 – 208.
- [28] CURIONI, P. M. G., BOSSET, J. O. *Key odorants in various cheese types as determined by gas chromatography-olfactometry*. International Dairy Journal, 2002, 12, pp. 959 – 984.
- [29] POKORNÝ, J., VALENTOVÁ, H., PANOVSÁ, Z. *Senzorická analýza potravin*. Praha: VŠCHT, 1998, 95 s. ISBN 80-7080-329-0.
- [30] JAROŠOVÁ, A. *Senzorické hodnocení potravin*. 1. vyd., Brno: MZLU, 2001, 84 s. ISBN 80-7157-539-9.
- [31] INGR, I., POKORNÝ, J., VALENTOVÁ, H. *Senzorická analýza potravin*. Brno: MZLU, 1997. ISBN 80-7157-283-7.
- [32] LOUPANCOVÁ, B. *Vývoj těkavých aromatických látek v průběhu zrání sýrů s modrou plísní v těstě*. Diplomová práce. Brno: VUT, Fakulta chemická, 2004, 100s.
- [33] KATAOKA, H., LORD, H. L., PAWLISZYN, J. *Applications of solid-phase microextraction in food analysis*. J. Chromatogr. A. 2000, 880, pp. 35-62.
- [34] ŠTOUDKOVÁ, H. *Extrakce těkavých aromatických látek ze vzorku sýra*. Diplomová práce. Brno: VUT FCH, 2005, 101 s.
- [35] Katalog Sigma-Aldrich: SPME – Mikroextrakce tuhými fázemi.
- [36] CHALUPOVÁ, A. *Vliv teploty a doby skladování na obsah aromatických látek ve sterilovaných tavených sýrech*. Diplomová práce. Brno: VUT FCH, 2007, 86 s.
- [37] HARRISON, A. *In Techniques for Analyzing Food Aroma* R. Marsli, Ed., Marcel Dekker, New York, 1997, pp 96-100.
- [38] Katalog Lambda: SPME – Mikroextrakce tuhými fázemi.
- [39] VÍTOVÁ, E. *Hodnocení tvorby těkavých, senzoricky účinných látek mikrobiálních metabolitů a jejich charakterizace*. Pojednání k disertační práci. Brno: VUT FCH, 2002.
- [40] KLOUDA, P. *Moderní analytické metody*. Ostrava: Nakladatelství Pavel Klouda, 2003, 132 s. ISBN 80-902155-0-5.
- [41] ŠTULÍK, K. a kol. *Analytické separační metody*. 1. vyd., Praha: Univerzita Karlova, 2004, 264 s. ISBN 80-246-0852-9.
- [42] PERTILE, E., ČABLÍK, V. *Instrumentální metody analýzy*. Ostrava: Technická univerzita, 2006, 238 s. ISBN 80-248-1049-2.

- [43] CHURÁČEK, J., KOTRLÝ, S. *Analytická chemie II.* 1. vyd., Pardubice: VŠCHT, 1983, 189 s.
- [44] AMBROŽ, I. *Aromatické látky různých typů sýrů.* Diplomová práce. Brno: VUT, Fakulta chemická, 2004, 86 s.
- [45] HENDL, J. *Přehled statistických metod zpracování dat.* 1. vyd., Praha: Portál, 2004, 584 s. ISBN 80-7178-820-1.

7. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

AL	Aromatické látky
AMK	Aminokyseliny
BDP	Bojové dávky potravin
CAR TM /PDMS	Carboxen TM /polydimethylsiloxan
DI-SPME	Direct immersion-SPME – přímé ponoření-SPME
DVB	Divinylbenzen
EU	Evropská unie
FID	Flamme ionization detektor - plamenový ionizační detektor
GC	Gas chromatography – plynová chromatografie
HS-SPME	Headspace-SPME
MK	Mastné kyseliny
PA	Polyakrylát
PDMS	Polydimethylsiloxan
SL	Sterilovaný sýr uchovávaný v lednici
SPME	Solid phase microextraction – mikroextrakce tuhou fází
SS	Sterilovaný sýr uchovávaný při pokojové teplotě
ST	Sterilovaný sýr uchovávaný v termostatu
TAG	Triacylglyceroly
t _R	Retenční čas
tv _S	Tuk v sušině

8. SEZNAM PŘÍLOH

- Příloha 8.1 Obrázky sterilovaných tavených sýrů
- Příloha 8.2 Protokol pro senzorické hodnocení tavených sýrů
- Příloha 8.3 Stupnice pro senzorické hodnocení tavených sýrů
- Příloha 8.4 Ukázka chromatogramu SL – sterilovaný tavený sýr uchovávaný v lednici
- Příloha 8.5 Ukázka chromatogramu SS – sterilovaný tavený sýr uchovávaný při pokojové teplotě
- Příloha 8.6 Ukázka chromatogramu ST – sterilovaný tavený sýr uchovávaný v termostatu



SL I, 23 měsíců



SS I, 23 měsíců



ST I, 23 měsíců

Protokol pro senzorické hodnocení tavených sýrů

Jméno:

Datum a hodina:

Podpis:

Senzorické hodnocení pomocí stupnic (zapište zvolený stupeň)

<i>Tavený sýr</i>	<i>Znak</i>				
	<i>Vzhled a barva</i>	<i>Lesk</i>	<i>Konzistence</i>	<i>Chuť a vůně</i>	<i>Celkové hodnocení</i>
A					
B					
C					
E					
F					
H					

Pořadové zkoušky

Seřaďte sterilované tavené sýry A, C a D podle tuhosti (1 – tavený sýr nejméně tuhý, 3 - tavený sýr nejtužší; dva tavené sýry by neměly mít stejné číslo)

Tavený sýr	A	C	D
Tuhost			

Seřaďte sterilované tavené sýry B, E a H podle tuhosti (1 – tavený sýr nejméně tuhý, 3 - tavený sýr nejtužší; dva tavené sýry by neměly mít stejné číslo)

Tavený sýr	B	E	H
Tuhost			

Seřaďte sterilované tavené sýry A, C a D podle odstínu – tmavosti (1 – tavený sýr nejméně tmavý, 3 - tavený sýr nejtmavší; dva tavené sýry by neměly mít stejné číslo)

Tavený sýr	A	C	D
Tmavost			

Seřaďte sterilované tavené sýry B, E a H podle odstínu – tmavosti (1 – tavený sýr nejméně tmavý, 3 - tavený sýr nejtmavší; dva tavené sýry by neměly mít stejné číslo)

Tavený sýr	B	E	H
Tmavost			

Seřaďte sterilované tavené sýry A, C a D podle svých preferencí (1 – tavený sýr nejlepší, 3 - tavený sýr horší; dva tavené sýry by neměly mít stejné číslo)

Tavený sýr	A	C	D
Preference			

Seřaďte sterilované tavené sýry B, E a H podle svých preferencí (1 – tavený sýr nejlepší, 3 - tavený sýr horší; dva tavené sýry by neměly mít stejné číslo)

Tavený sýr	B	E	H
Preference			

Stupnice pro senzorické hodnocení tavených sýrů

Vzhled a barva

1. *Vynikající* – barva smetanově bílá, stejnorodá, bez cizích odstínů. Sýr hladký, lesklý.
2. *Výborná* – nepatrná odchylka od deklarované barvy a vzhledu, bez cizích odstínů, homogenní, typická pro smetanový tavený sýr. Změny barvy způsobené osycháním sýru, oxidačními změnami vyloučeny. Vzhled bez jakýchkoliv známek deformace, čistý, hladký, lesklý.
3. *Velmi dobrá* – mírná odchylka od deklarované barvy a vzhledu, bez cizích odstínů, homogenní, typická pro smetanový tavený sýr. Změny barvy způsobené osycháním sýru, oxidačními změnami jen nepatrné. Vzhled bez jakýchkoliv známek deformace, na povrchu sýra čistý, hladký, lesklý.
4. *Dobrá* - barva odpovídá druhu taveného sýra, je homogenní s vyloučením mramorování barvy. Vzhled vykazuje odchylky způsobené mírnou deformací tvaru, drobnější závady v hladkosti povrchu, povrch sýra je nepatrně matný, stále však hladký.
5. *Méně dobrá* - barva odpovídá druhu taveného sýra, je homogenní s nepatrnými náznaky mramorování barvy. Vzhled vykazuje odchylky způsobené deformací tvaru, drobnější závady v hladkosti povrchu, povrch sýra je mírně matný, mírné odchylky v hladkosti.
6. *Nevyhovující* - barva mírně nehomogenní (mramorovitá), povrch sýra matný bez lesku, na povrchu mírné barevné změny v důsledku oxidativních změn.
7. *Nepřijatelný* – barva na povrchu i v těstě nehomogenní, silné oxidativní změny na povrchu, výskyt plísně, značná deformace povrchu, vzhled narušen duřením sýra, vytavený, oddělený tuk.

Lesk sýra

1. *Vynikající vysoký lesk* – sýr s vynikajícím leskem
2. *Výborný lesk*
3. *Dobrý lesk*
4. *Uspokojivý lesk*
5. *Méně dobrý lesk*
6. *Nevyhovující lesk*
7. *Naprosto nevyhovující lesk* – naprosto matný sýr

Konzistence

1. *Vynikající* – lehce roztíratelná, plastická, dokonale utavená, bez vzduchových dutin, homogenní, bez výskytu neutavených kousků sýra.
2. *Výborná* – konzistence výborně roztíratelná, jemná, nelepivá.
3. *Velmi dobrá* - roztíratelnost velmi dobrá, nepatrně tužší nebo měkčí.
4. *Dobrá* – roztíratelnost dobrá, mírně tužší nebo měkčí, slabě lepivá.

5. *Méně dobrá* – roztíratelnost horší, tužší, pastovitá nebo měkčí, lepivá.
6. *Nevyhovující* – lepivá, tuhá, řídká, nehomogenní, špatně roztíratelná.
7. *Nepřijatelná* – velmi tuhá až drobivá, silně lepivá, rozbředlá, nehomogenní s oddělujícím se tukem, zduřelá s výskytem provzdušnění, silně krupičkovitá, roztékavá.

Chuť a vůně

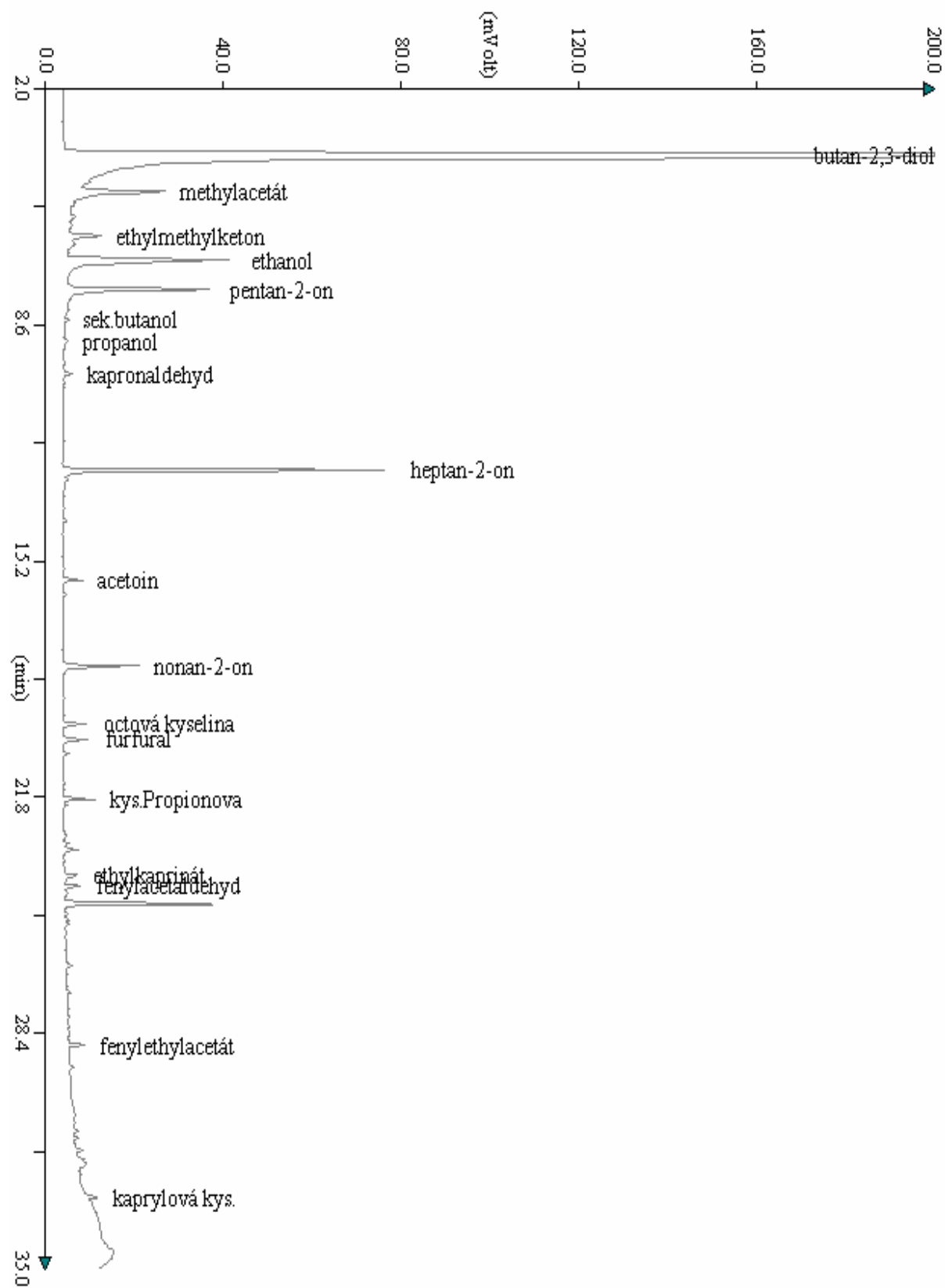
1. *Vynikající* - chuť jemná, mléčně sýrová, nebo máslová, smetanová, jemně sýrově nasládlá, výrazná. Vůně čistá velmi harmonická, cizí příchutě jsou vyloučeny.
2. *Výborná* – nepatrné odchylky od vynikající chuti a vůně, chuť a vůně harmonická, sýrová, nebo máslová, smetanová, jemně mléčně nakyslá nebo nasládlá, typická, cizí příchutě vyloučeny.
3. *Velmi dobrá* – mírné odchylky od vynikající chuti a vůně, přesto harmonická, odpovídající deklarovanému druhu, přirozeně mléčně nakyslá nebo nasládlá, typická, cizí příchutě vyloučeny.
4. *Dobrá* – chuť a vůně typická pro smetanový tavený sýr s odchylkami ne zásadního charakteru, avšak charakteristická a čistá pro deklarovaný druh.
5. *Méně dobrá* – výskyt cizích příchutí ve velmi malé intenzitě, méně harmonická, slabě nahořklá nebo slanější, slabá příchut' po tavicích solích, mírně kyselejší, , dílčí odchylky v chuti, slabě nečistá, slabě kvasničná.
6. *Nevyhovující* – výskyt cizích příchutí, méně harmonická, nahořklá, slanější, příchut' po tavicích solích, kyselejší, mírně oxidovaná, dílčí odchylky v chuti, mírně nečistá, mírně kvasničná.
7. *Nepřijatelná* – nečistá, žluklá, slaná, hořká, cizí, netypická, silně oxidovaná (žluklá), zatuchlá, kvasnicová, ostře kyselá aj.

Celkové hodnocení

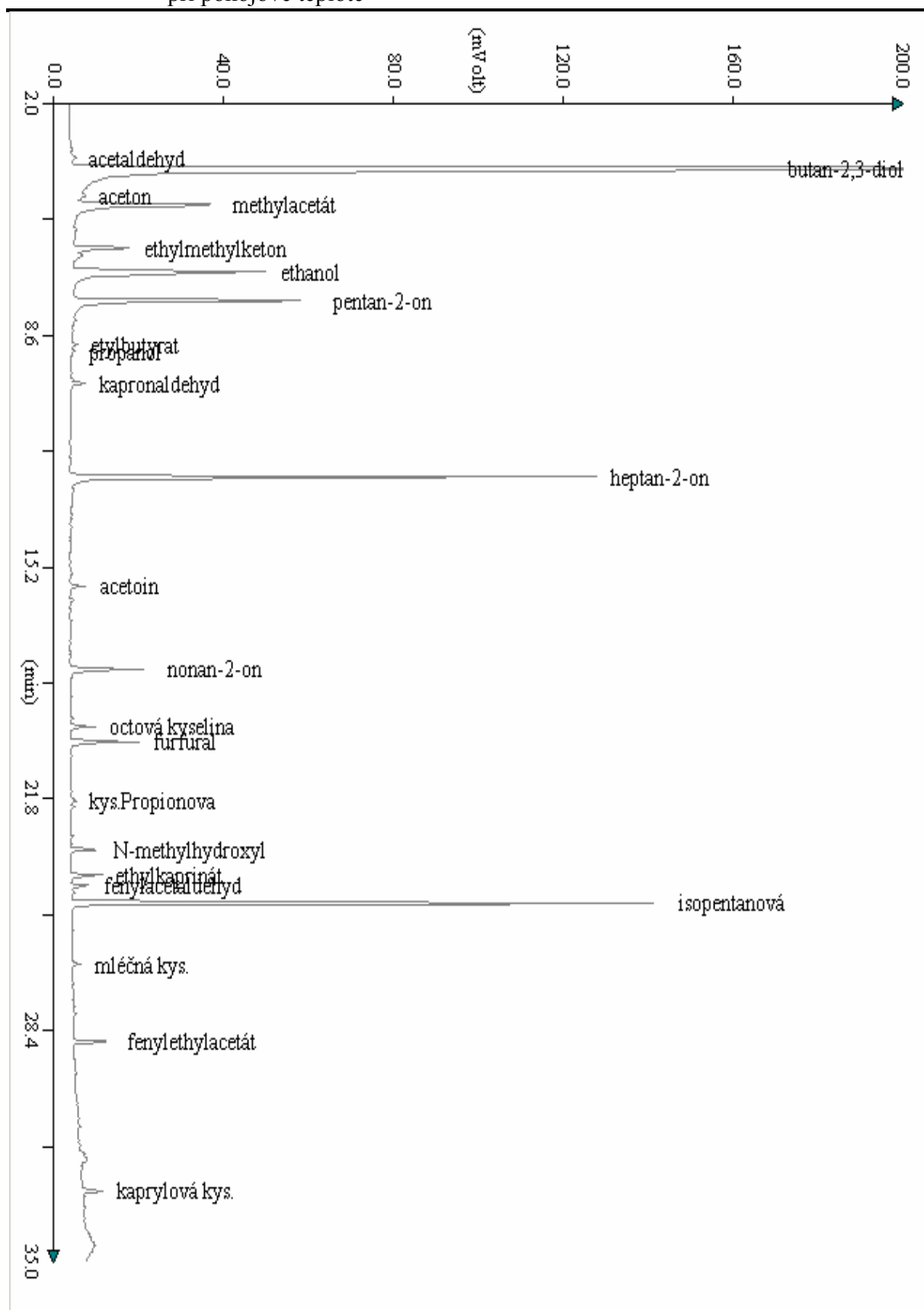
zohledňují se všechny ukazatele, prioritní postavení mají *chuť a vůně*, dalšími relevantními ukazateli jsou *vzhled a barva a konzistence*, ostatní deskriptory mají pouze „poradní sílu“

1. *Vynikající* - chuť a vůně musí mít hodnocení vynikající, ve všech ostatních relevantních ukazatelích ne hůře než výborný.
2. *Výborný* - chuť a vůně musí mít hodnocení ne horší než výborný, ve všech ostatních relevantních ukazatelích ne hůře než velmi dobrý.
3. *Velmi dobrý* - chuť a vůně musí mít hodnocení ne horší než velmi dobrý, ve všech ostatních relevantních ukazatelích ne hůře než dobrý.
4. *Dobrý* - chuť a vůně musí mít hodnocení ne horší než dobrý, ve všech ostatních ukazatelích ne hůře než méně dobrý.
5. *Méně dobrý* - tavený sýr hodnocený ve všech ukazatelích ne hůře než méně dobrý.
6. *Nevyhovující* - tavený sýr hodnocený ve všech ukazatelích ne hůře než nevyhovující.
7. *Naprosto nevyhovující* - tavený sýr, který je u jakéhokoliv ukazatele hodnocen jako naprosto nevyhovující.

Příloha 8.4 Ukázka chromatogramu SL, 23 měsíců – sterilovaný tavený sýr uchovávaný v lednici



Příloha 8.5 Ukázka chromatogramu SS, 23 měsíců – sterilovaný tavený sýr uchovávaný při pokojové teplotě



Příloha 8.6 Ukázka chromatogramu ST, 16 měsíců – sterilovaný tavený sýr uchovávaný v termostatu

